

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## Relations entre le venin de cobra et son antitoxine

PAR A. CALMETTE ET L. MASSOL

(Institut Pasteur de Lille.)

---

Malgré les importants travaux publiés au cours de ces dernières années sur les relations entre les toxines et leurs antitoxines, nous ignorons encore si, dans les mélanges de ces substances, il se produit une combinaison chimique aboutissant à la formation d'un corps nouveau possédant des propriétés toutes différentes de celles de ses composants, ou si les deux substances, simplement juxtaposées, gardent leurs caractères particuliers.

De toutes les matières albuminoïdes toxiques susceptibles de former des *anticorps*, les venins sont les plus propres à nous fournir des données précises pour la solution de ce problème physiologique. Outre qu'il est facile d'en obtenir des quantités relativement considérables qu'on peut conserver pendant des années à l'état sec sans que leur toxicité subisse des variations sensibles, ils offrent le précieux avantage d'être très résistants à la chaleur, et de ne pas être modifiés par certains réactifs tels que les acides faibles, l'alcool, auxquels les autres toxines sont particulièrement sensibles.

Déjà en 1895, l'un de nous <sup>1</sup> avait montré que, si l'on mélange *in vitro*, en proportions déterminées, du venin et du sérum antivenimeux et qu'on chauffe ce mélange à 68° pendant une demi-heure, l'injection du mélange chauffé tue les animaux comme si l'on inoculait le venin seul, quoique avec un retard notable. On devait en conclure que le sérum antitoxique ne détruit pas la toxine à laquelle il est mélangé. On était, dès

1. CALMETTE, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, n° 4.

lors, conduit à admettre qu'il ne se forme aucune combinaison chimique entre les deux substances et que le sérum se borne à exercer parallèlement une action opposée en empêchant les effets nocifs du venin, ou tout au moins que, s'il se forme une combinaison, elle est dissociable.

C.-J. Martin et Cherry<sup>1</sup>, en répétant ces expériences, trouvèrent qu'elles étaient bien exactes lorsqu'on chauffait le mélange *venin + antitoxine* moins de 10 minutes après qu'il avait été effectué, mais que, si l'on chauffait seulement 20 ou 30 minutes plus tard, la toxicité du venin ne reparaisait plus.

Récemment J. Morgenroth<sup>2</sup> a jeté sur la question une vive lumière en indiquant que lorsqu'on ajoute une petite quantité d'acide chlorhydrique au composé atoxique *venin + antitoxine*, le venin récupère la propriété d'entrer en combinaison avec la *lécithine* pour former un *lécithide* hémolysant (P. Kyes), tandis qu'en présence du sérum antitoxique seul, sans addition d'acide, la combinaison *lécithine + venin = lecithide*, ne peut pas s'effectuer. Dans un autre mémoire<sup>3</sup>, J. Morgenroth a démontré que le composé atoxique *venin + antitoxine*, chauffé à 100 degrés, pendant 30 minutes, en présence d'une faible acidité chlorhydrique, pouvait restituer la moitié de sa neurotoxine.

Il nous a paru nécessaire de reprendre l'étude de ces phénomènes et aussi celle des différentes propriétés du composé atoxique *sérum + venin*. Comme il est vraisemblable que les autres toxines, microbiennes, végétales ou animales, ne se comportent pas autrement que les venins à l'égard de leurs antitoxines spécifiques, on peut espérer qu'une connaissance plus approfondie des combinaisons formées par l'une d'entre elles permettra d'aborder plus facilement la recherche des lois qui président à leurs relations.

Toutes les expériences que nous relatons ci-après ont été faites avec le même échantillon de venin de cobra et avec le sérum antivenimeux provenant d'une même saignée. Le sérum a été conservé à la glacière et nous avons constaté que son pouvoir antitoxique n'a pas varié du commencement à la fin de nos essais : 0 c. c. 35 neutralisent exactement *in vitro* 0 mgr. 500 de venin.

1. *Proceedings of the Royal. soc.* 1898, vol. 63.

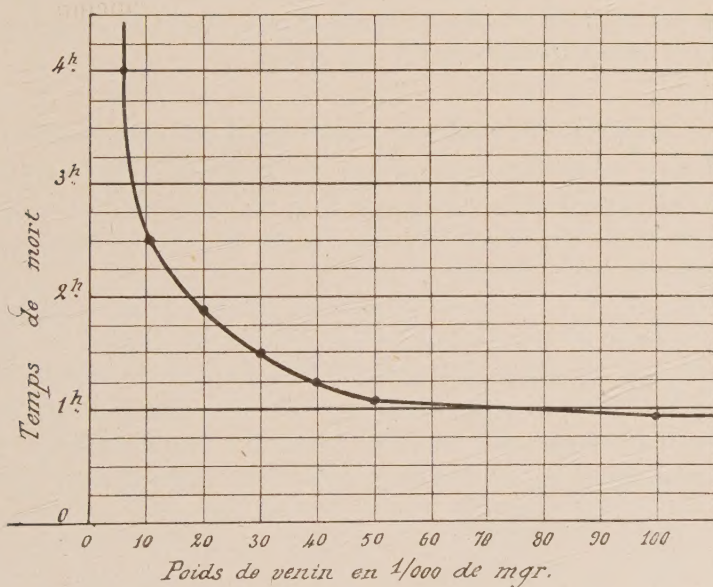
2. *Berlin. Klin Wochenschrift* 1903, n° 50.

3. *Sonderabdruck aus: Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin*, 1906.



Les solutions titrées de venin étaient préparées tous les quatre jours et tenues également à la glacière. La dose minima mortelle pour la souris blanche étant sensiblement de 0 mgr. 005, nous avons expérimenté avec des doses de 0 mgr. 500 0 mgr. 250, de telle sorte que les erreurs de nos résultats ne pouvaient pas être supérieures à 1 ou 2 0/0.

Nous donnons, ci-après, sous forme de graphique, les variations du temps de mort pour des doses variables de venin : les résultats indiqués sont, en général, les moyennes de quatre déterminations.



## I

*Propriétés de la combinaison atoxique sérum + venin et de ses composants.*

**A. Solubilité du venin dans l'alcool.** — Si nous versons 1 c. c. d'une solution à 5 0/00 de venin, soit 5 milligrammes, dans une série de vases contenant 9 c. c. d'alcool à titre variable, de telle sorte qu'on obtienne 10 c. c. marquant respectivement 47, 63, 69, 77, 86 degrés à l'alcoomètre de Gay-Lussac, on obtient, dans tous les cas, un léger précipité. Séparons celui-ci par filtration. Le liquide alcoolique, évaporé dans le vide à la tem-

pérature de 50-55 degrés centigrades, laisse un résidu dont la toxicité est égale à celle du venin primitif. Le précipité resté sur le filtre, lavé à l'alcool, puis repris par 5 c. c. d'eau salée physiologique après dessiccation, se montre complètement inoffensif.

Laissons pendant 24 heures 10 milligrammes de venin en contact avec 45 c. c. d'alcool à 50 0/0. Evaporons l'alcool, reprenons par l'eau et complétons à 50 c. c. La toxicité de cette solution pour la souris est la même que celle d'une solution témoin.

Donc, dans les conditions qui précèdent, *l'alcool peut dissoudre le principe toxique du venin* et la solution de ce principe toxique dans l'alcool à 50 0/0 est stable.

\*  
\* \*

B. *Insolubilité de l'antitoxine dans l'alcool.* — Par contre, la substance antitoxique du sérum antivenimeux est insoluble dans l'alcool à 50 0/0. Elle passe tout entière dans le précipité et y est très rapidement détruite, comme le prouve l'expérience suivante :

On traite 4 c. c. de sérum par un volume d'alcool suffisant pour obtenir 40 c. c. titrant 50 0/0. Après 18 heures de contact on évapore l'alcool. La dissolution du précipité ne se fait plus. On le met en suspension fine dans un volume d'eau correspondant au volume initial de sérum et on en mélange les quantités suivantes avec la dose uniforme de 0<sup>mgr</sup>,025 de venin.

Souris.	Dose de venin.	Sérum.	Temps de mort.
1	0 mgr. 025	0 c. c. 05	+ 2 h. 40.
2	id.	0 c. c. 06	+ 1 h. 20.
3	id.	0 c. c. 08	+ 2 h.
4	id.	0 c. c. 1	+ 1 h. 45.

Les mélanges se comportent comme s'il n'y avait pas trace d'antitoxine. Celle-ci est donc *détruite*, ou bien *l'alcool lui a fait perdre toute affinité pour le venin*.

Dans l'expérience qui va suivre, nous avons recherché le temps de contact de l'alcool à 50 0/0 avec l'antitoxine, nécessaire pour détruire le pouvoir antitoxique du sérum. Quatre vases reçoivent chacun 4 c. c. de sérum et une quantité d'alcool telle qu'on obtienne un volume de 25 c. c. à 50 0/0 de richesse



alcoolique. Aux divers temps de contact mentionnés dans le tableau ci-dessous on ajoute 1 c. c. d'une solution de venin à 5 0/00, soit 5 milligrammes. Après un séjour de 40 heures à la température du laboratoire, pour donner à la réaction le temps de s'accomplir, on évapore l'alcool dans le vide à 50-55 degrés et on reprend par l'eau de façon à obtenir

Souris.	TEMPS de contact de l'alcool avec l'antitoxine.	TEMPS de mort des souris.
1	0	Survie.
2	5'	Survie.
3	20'	+ 2 h. 15 — 12 h.
4	45'	+ 50'

10 c. c. Chaque souris reçoit ensuite 0,5 c. c., soit 0<sup>mgr</sup>,250 de venin. Il suffit donc d'un temps de contact très court avec l'alcool pour affaiblir l'antitoxine, puisque la toxicité apparaît déjà pour un contact de 20 minutes du sérum avec l'alcool dilué à 50 0/0.

\*  
\* \*

C. *Action de la chaleur sur le venin et sur l'antitoxine.* — Rappelons que le venin de cobra possède, comme l'ont montré déjà les recherches antérieures de l'un de nous, une grande résistance à la chaleur<sup>1</sup>. Il peut être chauffé pendant quelques instants au voisinage de 100 degrés sans que sa toxicité soit sensiblement atténuée. Toutefois 2 et 5 doses mortelles, portées pendant 30 minutes au bain-marie à 100 degrés deviennent inoffensives.

Si l'on coagule une solution de venin par la chaleur (à 76-80 degrés), le coagulum après lavage ne contient pas le principe toxique : celui-ci reste en solution dans le liquide. *Les albumines du venin, coagulables par la chaleur, ne sont donc pas toxiques.*

Par contre, l'antitoxine est facilement détruite par le chauffage :

Portons pendant 10 minutes, aux températures suivantes :

1. J. MORGENROTH a prouvé que cette thermostabilité des solutions de venin peut être considérablement augmentée par des traces d'acide chlorhydrique.

65°, 68°, 70°, 72°, 1,8 c. c. de sérum + 2,7 c. c. d'eau salée physiologique et, après refroidissement, ajoutons 0,5 c. c. de venin à 5 0/00. Laissons 15 minutes en contact et injectons 0,5 c. c. du mélange (soit 0<sup>mgr</sup>,250 de venin) à des souris :

Température.	Temps de mort.
65°	Survie.
68°	+ 24 h.
70°	+ 0 h. 45
72°	+ 1 h. 43

Nous voyons qu'à partir de 68 degrés l'antitoxine est partiellement détruite. Elle l'est complètement à 70 degrés.

\*  
\* \*

D. *Solubilité du composé atoxique sérum + venin dans l'alcool à 50 et 64 0/0.* — 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 sont traités par l'alcool de manière à obtenir un volume de 50 c. c., titrant 50 0/0. On filtre et, après évaporation de l'alcool, on reprend séparément le précipité et le liquide par l'eau en complétant à 10 c. c. On injecte 0,5 c. c. de chaque portion (0<sup>mgr</sup>,500 de venin), précipité et liquide, à deux souris qui survivent. Il n'y a donc pas de venin libre. Pour mettre en évidence le composé atoxique *sérum + venin*, on se sert de la méthode décrite par J. Morgenroth : on porte les liquides à 100 degrés pendant 30 minutes en présence d'une légère acidité chlorhydrique (0,05 c. c. à 0,1 c. c. d'acide chlorhydrique normal par c. c. de sérum employé suffisent). On injecte à des souris 0,5 c. c. des dilutions indiquées de la partie soluble et de la partie insoluble,

SOURIS	DILUTIONS	PARTIE	
		Soluble dans l'alcool.	Insoluble dans l'alcool.
1	1/5	+ 2 h.	+ 1 h. 35
2	1/6	Survie.	+ 1 h.
3	1/12	Id.	+ 2 h.
4	1/15	Id.	+ 72 h.
5	1/30	Id.	Survie.

Le composé atoxique *sérum + venin* se trouve donc principalement dans la partie insoluble dans l'alcool à 50 0/0. Cette



expérience répétée, en variant jusqu'à 48 heures la durée de contact de la combinaison atoxique *sérum + venin* avec l'alcool, donne le même résultat.

Avec une concentration plus élevée en alcool (64 0/0), et après un traitement analogue, on a les résultats suivants :

SOURIS	DILUTIONS	PARTIE	
		Soluble.	Insoluble.
1	1/3	Survie.	+ 1 h. 40 — 3 h. 10
2	1/10	Id.	+ Id.
3	1/15	Id.	+ Id.
4	1/25	Id.	+ 8 h. — 21 h.
5	1/50	Id.	+ Id.

L'insolubilité du composé *sérum + venin* est donc presque totale dans l'alcool à 64 0/0 et beaucoup plus grande que dans l'alcool à 50 0/0; tandis qu'au contraire, le venin seul est encore soluble dans l'alcool à 86 0/0.

Dans tous les cas, on constate qu'alors que l'antitoxine seule est complètement insoluble dans l'alcool à 50 0/0 et rendue inapte à neutraliser le venin, son *mélange préalable avec le venin* lui permet de garder toute son activité antitoxique.

Nous nous sommes demandé si cette stabilité de l'antitoxine vis-à-vis de l'alcool, en présence du venin, était acquise immédiatement. 5 milligrammes de venin (1 c. c. d'une solution à 5 0/00) sont mélangés avec 15 c. c. d'alcool à 50 0/0 + 5 c. c. à 95 0/0. On verse ensuite ce liquide sur 4 c. c. de sérum et on filtre aussitôt. En évaporant l'alcool à 50-55 degrés dans le vide et reprenant par l'eau, on constate que les deux parties, liquide et précipité, sont atoxiques pour les souris qui reçoivent un volume de liquide correspondant à 0<sup>m</sup>gr,500 de venin. Le phénomène est exactement le même si on précipite le sérum par l'alcool et si on ajoute aussitôt le venin. La vitesse de réaction est donc grande : la toxine et l'antitoxine se partagent entre le précipité et le liquide de manière à se trouver, de part et d'autre, dans le même rapport caracté-

risé par l'atotoxicité vis-à-vis de la souris ; ce n'est donc pas un simple phénomène d'entraînement. On peut, de plus, s'assurer de la présence du composé atoxique *sérum + venin* dans les deux parties (soluble et insoluble) en mettant le venin en évidence par la méthode habituelle.

L'antitoxine devient donc stable en présence d'*alcool éthylique*, dès l'instant où elle rencontre du venin.

D'autres essais nous ont prouvé qu'il en est de même avec l'*alcool méthylique*, l'*alcool propylique*, l'*éther acétique*, l'*acétone*. Les *sulfates d'ammoniaque* et de *magnésie* précipitent aussi la combinaison *sérum + venin* sans la dissocier.

\*  
\* \*

E. *Action de la chaleur sur le composé atoxique sérum + venin.*

1° *Influence de différentes températures pendant 10 minutes.* — Quatre vases reçoivent chacun 1,8 c. c. de sérum + 2,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 2,7 c. c. d'eau salée physiologique. Après 2 heures de contact on porte respectivement chaque vase pendant 10 minutes aux températures de 70, 72, 75 et 80 degrés. On injecte 0,5 c. c. (soit 0<sup>mgr</sup>,250 de venin) à des souris.

Voici les résultats obtenus :

Souris.	Températures de chauffage.	Temps de mort.
1	70°	Survie.
2	72°	Survie.
3	75°	+ 24 h.
4	80°	+ 1 h. 30.

En présence du venin, l'antitoxine acquiert donc une résistance marquée au chauffage, puisque la température qui la détruit dans ce cas est supérieure de 7 degrés à celle qui la détruit lorsqu'elle est seule. Mais à partir de 75 degrés la *dissociation a lieu* ; l'antitoxine est alors détruite et le mélange devient toxique.

D'autres expériences avec divers échantillons de sérum anti-venimeux nous ont montré que cette dissociation des composés atoxiques *sérum + venin* se produit tantôt à des températures légèrement plus basses, tantôt au contraire à des températures plus élevées ; que pour deux sérums différents, toutes autres conditions égales d'ailleurs, le poids de venin libéré était différent. Les variations sont du reste minimales. Pour le sérum



employé dans ce travail, le temps de contact avant chauffage ne joue aucun rôle.

2° *Influence du temps de chauffage à 72 degrés.* — 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 sont laissés en contact pendant 2 heures. On ajoute 15 c. c. d'eau salée physiologique pour empêcher la prise en masse sous l'action de la chaleur. Après les temps de chauffage de 10, 20, 30, 40, 60 minutes et 3 heures, on injecte 0,5 c. c. (0<sup>mgr</sup>,200 de venin) aux souris qui résistent toutes. La stabilité du composé atoxique est donc très nette à 72 degrés; il n'y a pas 2,5 0/0 de dissociation car les souris devraient accuser une dose mortelle (0<sup>mgr</sup>,005 de venin).

3° *Influence de la concentration en sérum + venin pour un chauffage de 10 minutes à 80 degrés.* — 10 c. c. de sérum + 2,5 c. c. de venin à 5 0/00 sont laissés en contact pendant 20 minutes (ce qui est sans importance pour ce sérum). On porte 10 minutes à 80 degrés, sous 5 c. c. de volume, les quantités de sérum + venin correspondant aux poids de venin du tableau et on injecte à des souris 0,5 c. c., soit le dixième des poids de venin indiqués. D'après l'expérience, la dissociation n'est donc appréciable que pour une certaine concentration en sérum + venin; elle augmente légèrement avec cette dernière sans toutefois lui être proportionnelle. Ainsi les souris numéros 5, 6, 7, 8, pour lesquelles la concentration varie dans le rapport de 1 à 4 accusent, d'après leurs temps de mort, un poids de venin compris entre 0<sup>mgr</sup>,0065 et 0<sup>mgr</sup>,0085. La chaleur seule ne fait donc apparaître qu'une faible proportion de venin et, lorsque la concentration du liquide en venin atteint une certaine valeur, la *décomposition s'arrête*.

SOURIS	S + V	TEMPS DE MORT
	Venin sous 5 c. c.	
1	0 mg.	Survie.
2	0 mgr. 100	Id.
3	0 mgr. 150	Id.
4	0 mgr. 200	Id.
5	0 mgr. 500	+ 3 h. 25
6	1 mgr.	+ 3 h. 45
7	1 mgr. 5	+ 3 h.
8	2 mgr.	+ 2 h. 55
9	2 mgr. 5	+ 2 h.
10 Témoin non chauffé.	5 mgr.	Survie.

Dans la suite nous constaterons en effet qu'une partie du venin reste lié à l'antitoxine.

\*  
\* \*

4° *Coagulation du composé atoxique sérum + venin par la chaleur.* — Chauffons pendant 10 minutes à 80 degrés le mélange atoxique 8 c. c. de sérum + 2 c. c. de venin à 5 0/00 + 10 c. c. d'eau salée physiologique pour empêcher la coagulation avec prise en masse. Ajoutons ensuite 20 c. c. d'eau salée physiologique pour permettre la dissolution du venin libéré et laissons en contact pendant 3 heures en agitant fréquemment. On centrifuge et on lave quatre fois le précipité. Après avoir complété les deux parties (soluble et insoluble) à 60 c. c., on injecte une série de souris avec 0,5 c. c. des dilutions indiquées de ces liquides et une autre série avec 0,5 c. c. des mêmes liquides traités à chaud en présence d'une légère acidité chlorhydrique (méthode précédemment décrite). On obtient les résultats suivants :



		DILUTIONS	TEMPS DE MORT sans HCl.	TEMPS DE MORT avec HCl.
Liquide...	1	1/1	Très malade.	+ 2 h.
	2	1/2	Id.	Survie.
	3	1/3	Survie.	Id.
	4	1/4	Id.	Id.
Précipité...	1	1/1	Survie.	+ 4 h. 30 — 12 h.
	2	1/2	Id.	+ Id.
	3	1/3	Id.	+ Id.
	4	1/4	Id.	+ Id.

Un chauffage pendant 10 minutes à 80 degrés est donc incapable de scinder totalement la combinaison, puisqu'un nouveau traitement à chaud, en présence d'acide chlorhydrique, permet d'obtenir une toxicité beaucoup plus grande. En outre, le précipité primitif, qui était complètement atoxique, devient toxique après le traitement à l'acide. La combinaison *sérum + venin* a donc été insolubilisée en majeure partie sans être décomposée. Par suite, le venin qui, alors qu'il est seul, n'est pas insolubilisé par la chaleur, devient coagulable dès qu'il se trouve en présence d'antitoxine, et une partie de cette dernière résiste, grâce au venin, à un chauffage de 10 minutes à 80 degrés.

## II

### RÉGÉNÉRATION DU VENIN ET DE L'ANTITOXINE

J. Morgenroth a démontré que, dans un composé atoxique *sérum + venin*, on peut, en chauffant à 100 degrés en présence d'une faible acidité chlorhydrique, mettre le venin en évidence. Par cette méthode il n'est pas prouvé que l'acide scinde la combinaison : il donne surtout de la thermostabilité au venin. En effet, d'après nos essais, il suffit d'un simple chauffage de 10 minutes à une température comprise entre 75 et 80 degrés pour faire apparaître le venin et, en outre, si nous chauffons du venin seul ou le composé atoxique *sérum + venin* à 100 degrés pendant 30 minutes, les souris n'accusent plus de toxicité

pour 2 et 5 doses mortelles comme le démontrent les expériences suivantes :

## EXPÉRIENCE I.

SOURIS	POIDS DE VENIN	TEMPS DE MORT		
		Venin non chauffé	Venin chauffé.	Sérum + Venin chauffé.
1	0 mgr. 025	+ 1 h. 48	Survie.	Survie.
2	0 mgr. 010	+ 2 h. 30	id	id

Le venin est donc détruit. Par le même temps de chauffage en présence d'acide chlorhydrique (0,05 c. c. à 0,1 c. c. de la solution normale par c. c.) on obtient les résultats ci-dessous :

## EXPÉRIENCE II.

SOURIS	POIDS DE VENIN	TEMPS DE MORT	
		Venin.	Sérum + Venin.
1	0 mgr. 025	+ 2 h. 45	+ 3 h. 30
2	0 mgr. 010	+ + 2 h. 45	Survie.

L'acide rend seulement le venin thermostable. Toutefois par cette méthode, *J. Morgenroth* n'obtient guère que la moitié du venin présent, bien qu'une solution du venin témoin chauffée avec la même quantité d'acide, conserve sensiblement toute sa toxicité.

Au contraire, dans la méthode que nous allons décrire, l'action de l'acide chlorhydrique sur la combinaison va ressortir très nettement. Chauffons 30 minutes à 72 degrés 4 c. c. de sérum + 1 c. c. d'une solution de venin à 5 0/00 + 0,6 c. c. d'acide chlorhydrique normal ; après refroidissement, complétons à 100 c. c., et injectons à des souris 0,5 c. c. des dilutions indiquées ci-après :

## EXPÉRIENCE III

SOURIS	DILUTIONS	VENIN sous 0,5 c. c.	TEMPS DE MORT
1	1/1	0 mgr. 025	+ 1 h. 26
2	2/5	0 mgr. 010	+ 2 h. 2



Les deux animaux d'expérience meurent en 1 h. 26 et 2 h. 2, temps comparables à ceux des souris témoins dans l'expérience I (venin non chauffé); la *restitution du venin serait donc totale*. On peut aussi constater qu'on récupère plus de venin qu'à 100 degrés, puisque la souris n° 2 (expérience III) est morte alors que la souris n° 2 (S + V exp. II) a survécu. En outre, on sait que le même composé atoxique *sérum + venin* peut être porté à 72 degrés pendant 3 heures sans se dissocier; l'acide chlorhydrique rendrait donc sa thermolabilité à l'antitoxine et cela sans doute en faisant cesser sa liaison avec le venin.

Enfin la restitution incomplète du venin par la méthode de *Morgenroth* n'est pas due à l'action de l'antitoxine sur le venin. Chauffons en effet pendant 30 minutes à 100 degrés les mélanges suivants :

1° 2,5 c. c. de sérum + 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique normal ;

2° Les cendres de 2,5 c. c. de sérum + 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique + 2,5 c. c. d'eau physiologique ;

3° 0,5 c. c. de venin à 5 0/00 + 0,3 c. c. d'acide chlorhydrique + 2,5 c. c. d'eau physiologique.

Après refroidissement, complétons chaque essai à 50 c. c. et injectons à des souris 0, c. c. 5 des dilutions indiquées.

EXPÉRIENCE IV

DILUTIONS	TEL	4/10
Venin.	0 mgr. 025	0 mgr. 010
1	+ 3 h. 45	Survie.
2	+ 4 h. 15	Id.
3	+ 2 h. — 3 h. 15	+ 3 h. 15

La restitution incomplète du venin ne dépend donc pas de l'antitoxine (on a pu le constater aussi en ajoutant le venin au sérum chauffé à 100 degrés), la toxicité de celui-là reste la même, mais de l'action des substances minérales du sérum en présence de l'acide chlorhydrique et de l'influence nocive de ce dernier à 100 degrés sur le venin, comme il ressort de la comparaison des temps de mort des souris n°s 1 et 2 (exp. I venin non chauffé) avec ceux des deux souris n° 3 de l'expérience IV.

\*  
\* \*  
\* \*

A. *Influence de divers acides.* — Il nous a paru intéressant d'étudier, outre l'influence de l'acide chlorhydrique libre, déjà signalée par J. *Morgenroth*, celle d'autres acides minéraux et organiques sur le composé atoxique *sérum + venin*. Voici, brièvement résumés, les résultats de nos essais :

Le sérum et le venin sont laissés en contact pendant 1 heure. On introduit 2 c. c. du composé atoxique (soit 2 mgr. de venin) dans une série de tubes à essais et, après addition de chaque acide, on complète à 10 c. c. On porte 10 minutes à + 72 degrés et on injecte 0,5 c. c. (soit 0<sup>mgr</sup>,400 de venin initial) à des souris.

A exprime la dose d'acide ajouté correspondant à 5<sup>mgr</sup>,43 d'acide chlorhydrique.

B exprime la dose d'acide correspondant à 10<sup>mgr</sup>,86 d'acide chlorhydrique.

NATURE DES ACIDES	A	B
1. Acide sulfurique.....	+ 44'	»
2. — chlorhydrique...	+ 38'	»
3. — formique.....	Survie.	+ 1 h. 20
4. — oxalique.....	Survie.	+ 3 h. 45
5. — acétique.....	+ 3 h. 45	Très malade.
6. — butyrique.....	Survie.	Survie.
7. — succinique.....	»	Survie.
8. — tartrique.....	»	+ 1 h. 30
9. — citrique.....	»	+ 1 h. 34
10. — malique.....	»	+ 1 h. 50
11. — lactique.....	»	+ 1 h.
12. — borique.....	»	Survie.
13. Témoin (sans acide)...	»	Survie.

Des témoins faits avec les mêmes mélanges, sans le venin, ont tous survécu.

En résumé, tous les acides expérimentés, sauf les acides *borique*, *succinique* et *butyrique*, sont capables de faire réapparaître



le venin par un chauffage de 10 minutes à 72 degrés. On peut donc dire *qu'en milieu acide*, la combinaison *sérum + venin* acquiert une plus grande *thermolabilité*.

D'autres expériences dont nous ne croyons pas utile de rapporter ici les détails, nous ont montré :

1<sup>o</sup> Que l'acide chlorhydrique aux doses employées (0,4 c. c. de la solution normale par cent. cube de sérum) ne diminue pas l'antitoxité du sérum), même après un contact de 24 h. à la température du laboratoire ;

2<sup>o</sup> Qu'un poids déterminé d'acide ne libère qu'une quantité fixe de venin, quelle que soit la concentration du mélange ;

3<sup>o</sup> Enfin que la toxicité du mélange chauffé à 72 degrés augmente avec le poids d'acide ajouté, de telle sorte *qu'on peut récupérer la presque totalité du venin initial*.

\*  
\* \*

*B. Influence de l'alcool en milieu acide.* — Nous avons vu précédemment que l'alcool à 50 0/0 (il en est de même pour l'alcool à 90-95 0/0) ne détruit pas la combinaison *sérum + venin*. Par contre, si l'on ajoute 0,4 c. c. d'acide chlorhydrique normal par cent. cube de sérum, on constate *que le venin libéré passe immédiatement en solution dans l'alcool* et que, après un certain temps de contact avec l'alcool, l'antitoxine précipitée devient inactive. D'ailleurs tous les acides étudiés à propos de l'action de la chaleur peuvent aussi mettre le venin en liberté dès que le milieu est acide.

Nous avons pu constater, en outre, que la toxicité des mélanges, c'est-à-dire le venin libéré, augmente avec le poids d'acide.

Nous nous sommes alors demandé si l'alcool, grâce à sa propriété de dissoudre le venin et de précipiter l'antitoxine, ne nous permettrait pas, en opérant en milieu *acide*, de dissocier tout d'abord la combinaison *sérum + venin* et de la reconstituer ensuite.

Nos essais dans ce sens ont été rendus très difficiles par ce fait que, lorsqu'on précipite la combinaison atoxique *sérum + venin* par l'alcool en présence d'acide chlorhydrique, dès que le milieu devient acide on n'obtient qu'un précipité mucilagineux. Il faut centrifuger celui-ci rapidement, 15 à 30 minutes au plus (puisque l'antitoxine commence déjà à être partiellement détruite

par un contact de 20 minutes avec l'alcool à 50 0/0), avec une quantité d'alcool telle que le titre soit de 70 à 75 0/0, pour le séparer. On reprend ensuite le coagulum par un grand volume d'eau, on le neutralise partiellement en laissant une légère acidité libre pour éviter la formation de grumeaux, et on évapore dans le vide à la température de 50 à 55 degrés. On s'assure, d'autre part, que le liquide alcoolique ne précipite plus par l'alcool en excès; on neutralise partiellement et on évapore de même après avoir dilué par un assez grand volume d'eau.

Voici l'une de nos expériences :

A 10 c. c. de *sérum + venin*, correspondant à 10 milligrammes de venin, nous ajoutons 1, 5 c. c. de la solution normale d'acide chlorhydrique et une quantité d'alcool telle que le volume total, porté à 100 c. c., titre 72 0/0.

On centrifuge et on lave une seule fois le précipité à l'alcool à 50 0/0.

Durée du contact avec l'alcool : 15 minutes. On reprend séparément le précipité et le liquide par 400 c. c. d'eau; on neutralise partiellement, en évapore et on ramène à 25 c. c. chacune des deux parties. On injecte à des souris :

1<sup>o</sup> 0, 5 c. c. du liquide = 0 mgr, 200 de venin; mort en 1 heure;

2<sup>o</sup> 0, 5 c. c. du liquide + 0, 5 c. c. du précipité = 0 mgr, 200 de venin; mort en 48 heures;

3<sup>o</sup> 0 c. c. 5 du liquide + 0, 5 c. c. du précipité bouilli à 100 degrés = 0 mgr. 200 de venin; mort en 1 heure.

La reconstitution du composé atoxique *sérum + venin* est donc ici presque complète et l'antitoxine régénérée garde sa thermolabilité initiale.

D'autres essais semblables nous ont fourni les mêmes résultats.

Nous pouvons donc affirmer *qu'il est possible de dissocier la combinaison sérum + venin et de la reconstituer, au moins partiellement.*

#### CONCLUSIONS.

Les faits que nous avons établis nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1<sup>o</sup> La combinaison *sérum + venin* atoxique a des propriétés nettement différenciées de celles de ses composants;



2° La substance toxique du venin de cobra est soluble dans les liquides titrant de 50 à 80 0/0 d'alcool. Au contraire, *en présence d'antitoxine*, le venin commence à devenir insoluble dans l'alcool à 50 0/0, l'insolubilité étant presque totale pour un titre de 64 0/0.

L'antitoxine seule est insoluble dans l'alcool et, après un faible temps de contact, elle est détruite par ce réactif ;

3° *L'antitoxine, en présence du venin*, cesse d'être détruite par l'alcool éthylique même à 80 0/0, et reste active en présence de ce réactif. Il en est de même avec d'autres précipitants tels que l'alcool méthylique, l'alcool propylique, l'éther acétique, l'acétone.

Les sulfates d'ammoniaque et de magnésie précipitent aussi la combinaison *sérum + venin* sans la dissocier ;

4° La substance toxique du venin de cobra n'est pas coagulée par le chauffage à 76-80 degrés ;

5° L'antitoxine est détruite par le chauffage à + 68 degrés. Mélangée au venin, elle devient thermostable jusqu'à 75 degrés. A cette température, du moins pour le sérum que nous avons étudié, le composé atoxique *sérum + venin* est dissocié partiellement, et le venin correspondant, libéré, passe en solution. Celui qui reste combiné est insolubilisé. Il en est de même à 80 degrés ;

6° En présence de la plupart des acides minéraux ou organiques libres et sous l'influence de la chaleur à + 72 degrés, l'antitoxine des composés atoxiques *sérum + venin* redevient thermolabile et le venin est libéré. Celui-ci n'est pas détruit par l'antitoxine et on peut le récupérer presque complètement ;

7° En présence de l'alcool éthylique à 50 0/0 et des acides minéraux ou organiques libres, le composé atoxique *sérum + venin* peut être dissocié à la température du laboratoire : l'antitoxine, après 10 à 15 minutes, est assez peu modifiée pour qu'il soit possible de reconstituer, au moins partiellement, le composé atoxique primitif ; le venin n'est pas détruit par l'antitoxine et on peut le récupérer presque quantitativement.

Donc le composé atoxique *sérum + venin* possède des propriétés nettement différentes de celles de ses composants : il faut alors admettre l'hypothèse d'une *combinaison dissociable entre la toxine et l'antitoxine*.

---

# TRAITEMENT DES INFECTIONS EXPÉRIMENTALES À *TRYPANOSOMA GAMBIENSE*

*Résultats tardifs.*

PAR F. MESNIL ET M. NICOLLE

---

En donnant, il y a bientôt un an<sup>1</sup>, les résultats de nos recherches sur le traitement des infections expérimentales à *Trypanosoma gambiense*, nous exprimions des réserves quant au caractère définitif des guérisons obtenues; ces réserves étaient surtout indiquées pour les rats, chez lesquels nous avons observé des rechutes, même après 6 mois de guérison apparente. L'incertitude de nos résultats nous obligeait à suivre encore les animaux, naturellement sans aucune nouvelle intervention thérapeutique. C'est ce que nous avons fait; pendant plusieurs mois, nous avons continué des examens bihebdomadaires du sang, puis nous les avons espacés.

Nous pouvons donc aujourd'hui apporter des documents qui s'étendent sur une période de 1 à 2 ans et qui, de ce chef, possèdent, croyons-nous, une valeur particulière.

Nous passerons rapidement sur ce qui concerne les rats, pour insister sur les résultats obtenus chez les singes.

RATS. — Au 1<sup>er</sup> janvier 1907, il nous restait 5 rats; tous ont succombé dans le courant de l'année *sans avoir présenté la moindre rechute*: le 1<sup>er</sup> a été sacrifié (très malade) le 9 mars, un autre est mort le 28 juin, les 3 derniers en août ou septembre.

Pour le rat sacrifié le 9 mars, le sang a été injecté à un rat; l'émulsion, en eau physiologique, du cerveau, de la rate, de quelques ganglions et de la moelle d'un fémur, à un autre rat. 4 mois après, les 2 animaux étaient encore indemnes.

Des 3 rats, 4 ont été traités uniquement par des injections de la couleur de benzidine « Ph » (« *afridol violet* » de la Maison Bayer). Le sujet sacrifié le 9 mars en avait reçu 7; au moment de la mort, il s'était écoulé 6 mois depuis la dernière apparition des Trypan. et la dernière intervention thérapeutique. — 2 des autres rats avaient reçu 2-3 injections de Ph; il n'ont rien montré pendant plus d'une année. — Le 4<sup>e</sup> avait eu une rechute après un triple traitement par Ph; nous en avons eu raison définitivement avec une double intervention, puisqu'un an après la rechute, quand le rat a succombé, les Trypan. n'avaient pas reparu.

1. MESNIL, NICOLLE et AUBERT, ces *Annales*, 25 janvier 1907, p. 4. Dans ce mémoire, nos expériences étaient arrêtées à la date du 31 décembre 1906.

Notre 5<sup>e</sup> rat, qui n'avait reçu que 2 injections d'atoxyl<sup>1</sup>, a succombé plus d'un an après la dernière apparition des Trypanosomes.

La guérison de tous ces rats ne fait, pour nous, aucun doute. Rappelons que les témoins des mêmes séries ont succombé à la Trypanosomiase en 40 à 134 jours (moyenne : 74).

SINGES. — Les résultats sont encore plus frappants avec les singes.

Il nous restait, au 1<sup>er</sup> janvier 1907, 11 singes vivants : 8 appartenaient aux séries I-III de mars, avril et mai 1906, 3 à la série IV d'octobre 1906. Ces 11 singes peuvent, d'après le traitement reçu, être divisés en 3 catégories :

#### A. Singes qui n'ont reçu que de l'atoxyl.

*Macacus cynomolgus* 54 (série I) : atoxyl à 7 reprises (on attend les rechutes). N'a plus rien montré du 13 juillet 1906 au 12 novembre 1907 (date de sa mort), c'est-à-dire en 16 mois. A présenté, en juin 1907, du prolapsus rectal ; s'est cachectisé depuis et a succombé sans que rien pût faire suspecter une trypanosomiase.

*Macacus sinicus* 41 (série II) : atoxyl à 5 reprises, les 3 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus jamais montré de Trypan. depuis le 20 mai 1906 jusqu'au 29 novembre 1907 (date de la mort), c'est-à-dire pendant plus de 18 mois.

*Macacus sinicus* 36 (série III) : atoxyl à 4 reprises, les 2 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. depuis le 20 juin 1906 (= 17 mois). *Vit encore*, en excellent état (le poids est passé de 3.280 grammes à 4.330). De 2 rats, inoculés, le 24 octobre 1906, chacun avec 4 c. c. de son sang, l'un est mort le 5-6 janvier 1907, sans avoir présenté de Trypan. ; l'autre n'avait encore rien offert le 1<sup>er</sup> mars ; il a été inoculé de Trypan. à cette date et s'est montré très sensible.

*Macacus cynomolgus* 51 (série III) : atoxyl à 4 reprises, les 2 dernières fois sans attendre les rechutes. N'a plus offert de Trypan. depuis le 4 juin 1906 (= 18 mois). *Vit encore*.

*Macacus rhesus* 46 (série IV) : atoxyl à 3 reprises, sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. depuis le 29 octobre 1906 (= 13 mois). *Vit encore*, en excellent état (le poids est passé de 3.500 grammes à 4.750).

A cette liste, il convient d'ajouter le singe 13 de notre série II (v. le tableau, page 17) qui, traité le 20 avril 1906, par une injection unique d'atoxyl, n'a jamais présenté depuis de Trypanosomes jusqu'au 19 octobre 1906, date à laquelle il est sacrifié. Tout son sang (60 c. c.) et l'émulsion : de la rate, des ganglions de l'aîne, d'un ganglion de la région pancréatique et de la

1. Nos solutions d'atoxyl, à 1 ou 2 0/0, ont toujours été stérilisées par le chauffage de quelques minutes à 100°.

2 Pour les détails, voir les tableaux de notre mémoire (*l. c.*, p. 16-19).



moitié de l'encéphale, sont inoculés dans le péritoine d'un chien qui, suivi avec soin pendant 4 mois 1/2, n'a rien montré d'anormal.

Parmi ces singes, le 36 et le 16 ont été traités assez tardivement, alors que l'infection était parvenue à la moitié environ de sa durée normale.

Nous croyons pouvoir affirmer aujourd'hui que ces 6 singes ont été guéris de leur infection à *Trypan. gambiense*.

B. *Singes que nous avons cherché à guérir par la couleur Ph, employée seule.*

Il ne nous restait, au 1<sup>er</sup> janvier 1907, que 2 singes : le *Macacus cynomolgus* 61 (sér. II) et le *M. rhesus* 14 (sér. III), le 1<sup>er</sup> mis en traitement le 20 avril 1906, l'autre le 23 mai. Malgré les injections répétées et relativement massives (très bien supportées d'ailleurs) de Ph, les Trypan. n'arrivaient pas à disparaître définitivement. Le 1<sup>er</sup> sujet a reçu alors, les 29 octobre et 21 novembre, de l'atoxyl et, dans l'intervalle, encore une fois du Ph. Le 2<sup>e</sup> a eu une injection unique d'atoxyl le 26 octobre, suivie, dans le courant du mois, de 2 injections de Ph. Depuis la 1<sup>re</sup> injection d'atoxyl (29-26 octobre 1906), les 2 singes n'ont plus montré de Trypan. L'autoagglutination des hématies, que nous avons vue diminuer assez vite, a mis cependant plusieurs mois avant de disparaître complètement.

Le singe 61 vit encore. Le 14 a été enlevé brusquement, par une pleuropneumonie, le 14 novembre 1907.

La guérison de ces singes, chez lesquels les Trypan. avaient disparu depuis plus d'un an, ne fait, croyons-nous, aucun doute.

C. *Singes traités par l'alternance Ph-Atoxyl.*

*Macacus rhesus* 12 (sér. I) : 1<sup>re</sup> injection, couleur « Cl » (= *afridol* bleu); puis, alternance Ph-atoxyl (en tout, 2 injections de Ph et 2 d'atoxyl; on attend chaque fois la rechute.) N'a plus montré de Trypan. depuis le 30 mai 1906 (= 49 mois). Vit encore.

*Macacus sinicus* 37 (sér. II) : d'abord, 3 injections de Ph; puis, atoxyl, Ph, atoxyl, sans attendre les rechutes. N'a plus montré de Trypan. du 3 juin 1906 jusqu'au moment de la mort (26 juin 1907), laquelle n'a pu être attribuée à la Trypanosomiase.

*Macacus rhesus* 22 (sér. IV) : 2 injections d'atoxyl séparées par 1 de Ph (sans attendre les rechutes). N'a rien montré depuis le 29 octobre 1906 (= 43 mois). Vit encore. L'autoagglutination des hématies avait complètement cessé au bout de 2 mois.

*Macacus cynomolgus* 95 (sér. IV) : 3 injections de Ph, alternant avec 3 d'atoxyl. Succombe, le 2 janvier 1907, de pyémie d'origine tégumentaire; le sang du cœur donne, en culture, des microbes pyogènes et du colibacille. Bien que le sang, prélevé au moment de la mort, n'ait pas infecté un rat, nous ne voulons pas conclure à la guérison du porteur parce qu'il avait reçu, quelques jours auparavant, une injection d'atoxyl. Mais nous pouvons

affirmer que l'animal n'a pas succombé à la Trypanosomiase. Son observation, ainsi que celle de quelques autres singes portés sur les listes de notre précédent mémoire, et qui avaient aussi succombé au cours du traitement par l'atoxyl ou l'afridol violet, ne saurait donc être invoquée ni pour ni contre la méthode.

Aux 3 singes 12, 37 et 22, que nous considérons comme ayant été guéris de leur infection à *T. gambiense*, il faut ajouter le *Macacus cynomolgus* 67 de notre série III.

Traité (intervention relativement tardive) par 2 injections d'atoxyl, alternant avec 2 de la couleur violette, ce singe n'a rien montré du 5 juin 1906 au 11 novembre suivant, date à laquelle il a succombé à une congestion pulmonaire. Des rats, inoculés le 24 octobre, chacun avec 3 c. c. de son sang, ont été suivis 2 mois et demi et 3 mois et demi sans offrir de Tryp. dans leur sang.

En somme, cette nouvelle attente de 11 mois, que nous nous sommes imposée, nous permet de lever les doutes que nous émettions prudemment au sujet du résultat final de nos traitements. Aujourd'hui, nous croyons pouvoir parler hardiment de guérisons définitives et affirmer que *douze singes macaques*, soumis à une infection sévère par le *T. gambiense* (rappelons que les témoins de nos diverses séries ont succombé en 20 à 51 jours : moyenne 32), *ont été guéris* :

1° 6 par l'atoxyl seul;

2° 4 par l'alternance atoxyl-Ph;

3° 2 par Ph, d'abord employé seul, puis associé (pour finir le traitement) soit à une injection unique, soit à 2 injections d'atoxyl.

Tous ces singes guéris ne paraissent avoir gardé aucune lésion particulière du fait de l'infection ou de la médication. Ils se sont comportés, depuis la disparition de leurs parasites, exactement comme leurs compagnons de captivité; les plus robustes ont fortement augmenté de poids et leur mortalité est demeurée relativement faible<sup>1</sup>.

Quant à ce qui concerne les indications que l'on serait tenté de tirer de nos expériences au point de vue de la thérapeutique humaine, elles demeurent toujours telles que nous les avons formulées dans notre précédent mémoire.

Paris, 2 décembre 1907.

1. Ainsi, dans le mois de novembre 1907, durant lequel nous avons perdu 3 sujets, une mortalité exceptionnelle a sévi sur tous les singes de l'Institut Pasteur, même sur les non-inoculés.

---

# Comment peut-on combattre l'anaphylaxie?<sup>1</sup>

PAR LE D<sup>r</sup> BESREDKA

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

---

Dans leur premier mémoire<sup>2</sup>, Rosenau et Anderson disent avoir cherché longuement, et inutilement d'ailleurs, à dépouiller le sérum de ses propriétés toxiques. Dans le second mémoire<sup>3</sup>, ils ont eu beau multiplier les expériences, le sérum n'est pas moins resté aussi toxique après le traitement qu'avant.

Tant d'efforts montrent que ces savants n'ont pas méconnu l'importance du problème. Et en effet, n'est-on pas en droit d'espérer que le jour où l'on aura réussi à rendre le sérum inoffensif pour le cobaye sensibilisé, on n'aura plus à redouter les accidents anaphylactiques aussi chez l'homme?

Dans l'espoir de détruire le principe toxique du sérum, les auteurs américains firent intervenir un grand nombre d'agents chimiques et physiques. Ils ont essayé tour à tour l'acide butyrique, le permanganate de potasse, le citrate de soude, l'alcool, le peroxyde de l'acide succinique, l'eau oxygénée, le sulfate d'ammoniaque, le chloroforme, le tricrésol, les rayons X, la filtration sur porcelaine.

Rien n'y a fait.

Plus récemment, dans le même ordre d'idées, ils ont fait agir sur le sérum différents ferments, alcaloïdes et sels : la taka-dias-tase, la pancréatine, la myrosine, l'invertine, l'émulsine, la pepsine en solution acide ou alcaline et encore d'autres ferments, mais sans succès.

Ils n'ont pas été plus heureux avec l'atropine, la strychnine, la morphine, la caféine, le chlorure de calcium, le sulfate de magnésium, la bile de bœuf, l'aldéhyde formique, etc. ; il en fut de même de la congélation de sérum, suivie de dégel.

De vieux sérums datant de huit ans ne se montrèrent guère moins toxiques que des sérums frais. Le chauffage à 60° pendant six heures consécutives demeura, d'après Rosenau et

1. Voir la note préliminaire dans les *Compt. rend. Soc. Biol.* 8 juin 1907.

2. A study of the cause of sudden death, etc., 1906.

3. Studies upon hypersusceptibility and immunity, 1907.



Anderson, sans effet sur la toxicité, et il ne fallait pas moins de 100° (15) pour faire disparaître le principe toxique de sérum.

Voilà ce qui a été fait jusqu'à présent. Voici maintenant ce que nous avons essayé de faire.

\*  
\* \*

Nous avons cherché à notre tour à empêcher les troubles anaphylactiques et cela de deux façons : soit en visant le sérum directement, en lui enlevant sa substance dite toxique, soit en agissant sur l'animal sensibilisé, en le rendant réfractaire à cette substance.

Disons de suite que toutes nos tentatives pour toucher le sérum dans sa toxicité, au moyen de produits chimiques, ont complètement échoué. Ni le liquide de Gram, ni la précipitation par l'eau distillée, ni l'extraction par l'éther, ni le contact prolongé (deux jours) avec du charbon animal, n'ont empêché le sérum de se montrer meurtrier pour le cobaye sensibilisé.

Nous nous adressâmes alors à des agents physiques et biologiques.

Nos expériences antérieures sur la toxicité des sérums<sup>1</sup> ont montré combien cette propriété pouvait varier suivant les sérums ; nous avons vu, en effet, qu'à côté de sérums hyper-toxiques, on pouvait en rencontrer qui étaient de toxicité minime. Ainsi, pour ne citer que nos sérums français, l'éclosion des troubles anaphylactiques ne s'opère que lorsqu'on en injecte des doses comparativement élevées (1/10-1/8 c. c.).

Or, en cherchant la cause de cette toxicité si faible, nous sommes arrivés à conclure que le principe toxique des sérums ne doit pas être indifférent à la température. Nous y étions amené d'autant plus que, par les expériences faites précédemment<sup>2</sup>, nous avons acquis la conviction que nos sérums français, employés tels que, à des intervalles assez rapprochés de la saignée, ne cédaient en rien, au point de vue de la toxicité, aux sérums des autres pays.

Force nous est donc d'admettre que le peu de toxicité de nos sérums est liée au chauffage à 55°-56° qu'ils subissent avant d'être livrés à la circulation.

Pour mettre la question au clair, nous résolûmes d'étudier,

1. Ces *Annales*, octobre 1907.

2. *Loc. cit.*

d'une façon suivie, la toxicité des sérums à différentes températures, à commencer par celle de 100 degrés.

\* \* \*

La disparition de la propriété toxique du sérum à la température d'ébullition a déjà été indiquée par Rosenau et Anderson; ces auteurs se sont bornés à signaler simplement le fait sans préciser s'ils avaient opéré sur du sérum coagulé ou non; c'est cependant un détail qui a son importance.

Nous avons eu toujours affaire à des sérums non coagulés quelle que fût la température à laquelle on les portait.

Pour empêcher la coagulation, nous ajoutons à 1 partie de sérum 3 parties d'eau distillée (4 c. c. de sérum + 12 c. c. d'eau distillée). Dès que le mélange est fait, on voit se produire un précipité, plus ou moins abondant suivant l'échantillon; ce précipité ne trouble en rien le phénomène et ne reparait d'ailleurs pas après le chauffage.

Le sérum ainsi dilué est porté pendant 20 minutes à 100 degrés. Le liquide devenu opalescent est mis sous cloche dans le vide et ramené à son volume primitif (4 c. c.)<sup>1</sup>. L'opalescence du sérum ainsi réduit s'accroît, mais sa consistance reste parfaitement liquide.

Injecté dans le cerveau des cobayes sensibilisés, à la dose maxima de 1/4 c. c., ce sérum chauffé à 100° se montre à peu près inoffensif: les animaux éprouvent un certain malaise, il est vrai, à la suite de l'injection, mais ils ne présentent jamais le moindre symptôme d'anaphylaxie.

Les cobayes témoins, sensibilisés dans les mêmes conditions que les précédents, reçoivent dans le cerveau le même échantillon de sérum, lequel a été dilué de trois volumes d'eau distillée, puis ramené à son volume initial, sans avoir été préalablement chauffé; tous ces cobayes sont pris de troubles anaphylactiques les mieux caractérisés.

Il s'ensuit donc que le chauffage du sérum à 100°, non accompagné de coagulation, suffit à lui seul pour rendre l'épreuve intracérébrale inoffensive.

Que devient donc à cette température la substance dite toxique du sérum, comme c'est l'usage de l'appeler? Est-elle

1. Un sérum que l'on évapore à siccité après l'avoir dilué d'eau et chauffé à 100°, ne se redissout plus bien dans l'eau distillée.

simplement atténuée et remplacée par une variété atoxique, ou bien est-elle détruite au point de ne laisser subsister aucune trace dans le sérum porté à 100° ?

\*  
\* \*

Pour répondre à cette question, nous n'avons qu'à interroger les faits.

Prenons un cobaye sensibilisé auquel on avait injecté la veille du sérum chauffé à 100°, dans le cerveau. Soumettons ce cobaye, dont l'aspect extérieur ne trahit aucun trouble, à une nouvelle épreuve intracérébrale, cette fois avec du sérum de cheval, non chauffé. Nous ne tarderons pas à constater que ce cobaye a conservé à peu près intégralement son hypersensibilité : au bout de 1-2 minutes il va succomber au milieu des phénomènes classiques.

Donc, l'injection du sérum chauffé à 100°, faite 24 heures auparavant, ne l'a pas préservé contre les accidents anaphylactiques ; en d'autres termes, les choses se passent, à peu de choses près, comme si, au lieu de sérum, on avait injecté un liquide indifférent tel que l'eau salée ou le bouillon.

Nous disons que les choses se passent à peu de choses près comme, etc., car en regardant mourir les cobayes en question on a l'impression que chez eux les troubles anaphylactiques évoluent avec moins de brutalité et durent plus longtemps que chez les cobayes témoins.

Cette impression s'affirme davantage lorsque du sérum chauffé (100°) est injecté non dans le cerveau, mais dans le péritoine (4-5 c. c.). Dans ce cas, les cobayes qui avaient été d'abord sensibilisés, puis injectés avec 4-5 c. c. de sérum chauffé (100°), supportent mieux l'épreuve cérébrale que les témoins : cela ne les empêche pas, du reste, de mourir 5-10 minutes plus tard d'anaphylaxie, dans la plupart des cas.

Cela est vrai lorsque l'intervalle entre l'injection intrapéritonéale de sérum chauffé, d'une part, et l'épreuve intracérébrale (1/4 c. c.), d'autre part, ne dépasse pas 24 heures.

Mais, chose curieuse, si cet intervalle est plus long et si l'on attend, avant d'éprouver le cobaye, 4-5-6 jours, le phénomène se présente sous un aspect tout autre : l'épreuve cérébrale provoque, dans ces conditions, tout au plus une toux anaphylactique et des phénomènes d'excitation, et c'est tout ; jamais on



n'observe ni les grands phénomènes d'anaphylaxie, ni la mort qui en est l'aboutissant ordinaire. Ce qui veut dire que le sérum, bien que chauffé à 100°, finit au bout de 3-6 jours par conférer une certaine immunité au cobaye. Tout n'est donc pas détruit dans un pareil sérum.

Ce qui ressort surtout de cette expérience, c'est que le pouvoir réactionnel d'un sérum chauffé à 100° est tellement amoindri que, pour le mettre en évidence, il ne faut pas moins de plusieurs jours.

Si donc la température de 100° amène des modifications aussi profondes dans le mode d'actions du principe toxique du sérum, il y a lieu d'escompter une atténuation, du moins très appréciable au-dessous de 100°. C'est en effet ce que l'expérience a montré.

\*  
\* \* \*

Trois portions d'un sérum de toxicité connue sont chauffées pendant 20 minutes respectivement à 76°, 89° et à 95° : de chaque échantillon il est injecté 1/4 c. c. dans le cerveau de deux cobayes sensibilisés.

De plus, deux cobayes sensibilisés reçoivent 1/4 et 1/10 c. c. de ce même sérum, non chauffé. Le premier de ces cobayes meurt en quelques instants avec les symptômes connus : le deuxième est très éprouvé, mais se remet une demi-heure après.

Quant aux autres cobayes, voici quel en fut le sort :

Un des cobayes, qui a reçu du sérum chauffé à 75°, 5, a présenté des troubles anaphylactiques assez sérieux ; l'autre n'a presque pas été malade. Les quatre autres cobayes, injectés avec des sérums chauffés à 89° et 95°, ont eu soit des troubles légers, ou n'ont présenté aucun symptôme.

Il est donc certain que la substance toxique du sérum est fortement entamée, même au-dessous de 100 degrés.

Nous avons établi antérieurement que le sérum de cheval est susceptible de vacciner, dans certaines conditions, les cobayes sensibilisés contre les accidents d'anaphylaxie.

Or, les expériences avec les sérums chauffés montrent que plus le sérum est chauffé plus, par conséquent, il est touché dans sa toxicité, et moins il est vaccinant.

En effet, lorsque deux jours après la première injection

intracérébrale, nous éprouvâmes tous les cobayes survivants, avec du sérum non chauffé, dans le cerveau, nous avons observé ceci: tous étaient vaccinés, il est vrai, mais d'une façon très inégale.

Le cobayon qui a résisté l'avant-veille à 1/10 c. c. de sérum non chauffé, se montre complètement réfractaire; quant aux autres, ils ont été tous plus ou moins malades; aucun d'eux n'est mort; mais, les cobayes les plus éprouvés lors de la deuxième injection étaient précisément ceux qui avaient reçu l'avant-veille du sérum le plus chauffé (95°).

D'une manière générale, les animaux ont réagi d'autant plus fortement à la seconde injection qu'ils avaient moins réagi à la première.

Le pouvoir taccinant du sérum suit donc la même courbe que le pouvoir toxique.

\*  
\*\*

Pour être applicable aux sérums thérapeutiques, le chauffage doit pouvoir s'effectuer à des températures notablement inférieures à celles indiquées plus haut; il faut trouver des conditions de chauffage telles qu'elles permettent de réaliser le maximum d'atténuation des propriétés toxiques avec le minimum de perte des propriétés curatives.

Nous avons donc cherché à ne pas dépasser 59-60°, température à laquelle les anticorps restent généralement intacts. La durée du chauffage variait de 1 heure à 7 heures.

Toutes les expériences étaient faites avec le même sérum: sérum toutouisi très toxique, de façon à permettre de suivre de très près la diminution progressive de la toxicité, suivant la durée du chauffage.

Ce sérum non chauffé était de toxicité telle que, à la dose de 1-4 cc. c. injecté dans le cerveau, il tuait le cobaye sensibilisé ou provoquait des troubles anaphylactiques très graves.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, trois jours de suite, la toxicité du sérum était la suivante :

1-4 c. c. ....	Mort certaine.
1-10 c. c. ....	Symptômes très graves, non suivis de mort.
1-20 c. c. ....	Pas de symptômes.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, cinq jours de suite :

1/4 c. c.....	Mort certaine.
1/8 c. c.....	Symptômes sérieux, mais passagers.
1/16 c. c.....	Presque pas de symptômes.

Après chauffage à 60° pendant 1 heure, sept jours de suite, les résultats étaient les mêmes que plus haut.

On voit donc que le chauffage même modéré, mais prolongé, peut diminuer la toxicité d'un sérum de 4-5 fois.

Même à la température de 56°, la toxicité du sérum se trouve sensiblement atténuée.

Un cheval est saigné le 10 septembre.

Le sérum est retiré le 12 septembre et divisé en deux portions.

Une portions A est laissée à la glacière.

Une portion B est chauffée une heure à 56° — le 12 septembre

— — — — — le 13 septembre

— — — — — le 14 septembre

— — deux heures — — le 15 septembre

Le 16 septembre, on injecte dans le cerveau à plusieurs cobayes sensibilisés du sérum A et B.

Sérum A non chauffé.	Sérum B chauffé.
1/16 c. c. Syptômes anaphylactiques graves, état agonisant, se remet très lentement.	1/16 c. c. Pas de symptômes.
1/12 c. c. Symptômes très violents; mort en 2 minutes.	1/12 c. c. Toux; aucun autre symptôme.
1/8 c. c. Symptômes très violents; mort en 1-2 minut.	1/8 c. c. Toux, convulsions, collapsus; se rétablit au bout de 3 minutes.
1/4 c. c. Symptômes très violents; mort en 2 minutes.	1/4 c. c. Symptômes très violents; mort en 1-2 minutes.

Il ressort nettement de cette expérience que le sérum qui a été chauffé trois jours de suite à 56°, une heure par jour et, la quatrième fois, deux heures, est *trois fois moins toxique* que le même sérum non chauffé.

Pour en finir avec l'action de la température, disons qu'aux environs de 40° la toxicité n'est presque pas touchée. Ainsi, nous avons laissé un sérum à l'étuve à 37° pendant 5 jours consécutifs, sans observer de changement sensible dans sa toxicité.

\*  
\* \*

Vu le caractère thermolabile de la substance toxique du sérum, il était tout naturel de se demander si cette substance n'est pas susceptible de donner un anticorps.



A cet effet nous avons immunisé des cobayes avec du sérum de cheval; *a priori* on pouvait admettre que le sérum de ces cobayes, mélangé avec celui de cheval, fût en état d'enrayer les troubles anaphylactiques. lors de l'épreuve intracérébrale.

L'expérience a montré qu'il n'en est rien; même ajouté à volume égal ( $1/8$  c. c. sérum de cheval +  $1/8$  c. c. sérum de cobaye préparé), le sérum de ce dernier se montra dépourvu de toute action antitoxique.

\*  
\* \*

Il n'existe donc pas jusqu'à présent de moyens directs, excepté le chauffage, permettant de toucher la substance spécifique du sérum. Et cependant rien n'est plus facile que d'empêcher les accidents d'anaphylaxie. lorsqu'on s'adresse à la voie indirecte, c'est-à-dire, à l'animal lui-même.

Nous avons déjà décrit ailleurs<sup>1</sup>, plusieurs procédés de vaccination contre l'anaphylaxie; tous ces procédés sont basés sur l'emploi du sérum de cheval, soit pendant la période préanaphylactique, soit même en pleine période d'anaphylaxie (doses minimales dans le cerveau).

Mais à côté de cette vaccination d'ordre spécifique, on peut obtenir l'immunité par un mécanisme tout différent.

Sur le conseil de M. Roux, nous essayâmes d'arrêter les phénomènes d'anaphylaxie au moyen de narcotiques.

Des cobayes sensibilisés, tout prêts à l'écllosion de troubles anaphylactiques, sont endormis à l'éther. Aussitôt que les muscles entrent en résolution, on leur injecte rapidement, dans le cerveau,  $1/4$  c. c. de sérum de cheval. Pour gagner du temps et ne pas troubler le sommeil des animaux, nous pratiquons le trou, avant de soumettre l'animal à la narcose. Une fois que le cobaye est endormi, il ne reste qu'à passer la canule de la seringue à travers le trou et à injecter  $1/4$  c. c. de sérum. Si la narcose est bien conduite, le cobaye continue à dormir après l'injection, et au bout d'une demi-heure environ il se réveille sans présenter le moindre symptôme d'anaphylaxie.

Lorsque, le lendemain, on injecte à ce cobaye une nouvelle dose ( $1/4$  c. c.) de sérum, il ne réagit plus : il est vacciné.

Le sérum de la veille, bien que n'ayant provoqué aucun trou-

1. Ces *Annales*, février et mai 1907.

ble apparent, avait néanmoins conféré l'immunité à l'animal.

\*  
\* \*

Les résultats de l'expérience sont tout autres lorsqu'on se sert de chlorhydrate de morphine. Pour obtenir la narcose, on est amené à en injecter des doses énormes (14 à 18 centigrammes pour des cobayes de 320-350 grammes), et encore ne réussit-on pas à provoquer une vraie narcose. L'animal offre un état d'hébétude accompagnée de raideur musculaire des plus marquées et, à l'épreuve cérébrale, il est pris de troubles caractéristiques et meurt comme un simple cobaye sensibilisé.

Pour avoir une vraie narcose avec résolution complète des muscles, il faut se servir d'extrait d'opium.

Un cobaye de 300-350 grammes, auquel on injecte dans le péritoine 1 c. c. d'extrait d'opium au 1/10, s'endort déjà au bout de 2-3 minutes d'un sommeil profond et reste indifférent à toute excitation extérieure.

Mais il suffit d'injecter à un tel cobaye, dans le cerveau, 1/4 c. c. de sérum pour le voir, une minute après, pris de soubresauts convulsifs; la respiration s'accélère, puis, les inspirations se font de plus en plus profondes, et l'issue devient fatale. Le tableau d'anaphylaxie est au complet, sauf la phase d'excitation qui manque; au lieu de se livrer à une course affolée avant de tomber en collapsus, le cobaye endormi à l'opium fait son anaphylaxie sur place, tout en dormant.

Le témoin, sensibilisé et narcotisé de la même façon, mais non soumis à l'épreuve intracérébrale, reste longtemps endormi, puis revient peu à peu à l'état normal.

L'extrait d'opium, à l'encontre de l'éther, laisse donc l'hypersensibilité des cobayes complètement intacte.

\*  
\* \*

#### CONCLUSIONS

La substance du sérum dite toxique, celle qui tue le cobaye sensibilisé, peut être attaquée par des moyens directs ou indirects.

De tous les moyens *directs* qui sont d'ordre chimique, physique ou biologique, seul l'emploi de températures élevées permet d'atténuer ou de faire disparaître à peu près complètement l'effet toxique du sérum.

Cet effet toxique décroît d'une manière progressive avec la température; très amoindri à 76°, il devient nul à 100°.

Cette échelle de toxicité est aussi celle du pouvoir vaccinant; ces deux propriétés marchent de pair et dans le même sens: encore très marqué dans le sérum chauffé à 76°.5, le pouvoir vaccinant s'affaiblit avec la température; il est réduit au minimum dans le sérum chauffé à 100°.

Le chauffage répété de sérum à 60° peut diminuer sa toxicité de quatre ou cinq fois.

Le chauffage à 56°, répété quatre jours de suite, pendant une heure, est même susceptible de diminuer la toxicité du sérum de trois fois.

Les moyens *indirects* consistent dans l'emploi du sérum à titre préventif, soit pendant la période préanaphylactique, soit en pleine période d'hypersensibilité.

Les accidents anaphylactiques peuvent être enrayés par la narcose à l'éther; l'animal se réveille vacciné.

Par contre, ni le chlorhydrate de morphine, ni l'extrait d'opium ne mettent le cobaye sensibilisé à l'abri des accidents anaphylactiques.

---



# Lésions de l'intestin grêle du porc produites par l'Echinorynque géant.

*Nouvelle contribution à l'étude du rôle des Helminthes dans l'étiologie des maladies infectieuses.*

PAR MM. WEINBERG ET ROMANOVITCH

(avec la planche XXII)

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans un mémoire précédent, l'un de nous<sup>1</sup> a exposé une série de faits, observés par lui chez l'homme et les animaux, montrant que les Helminthes peuvent jouer un rôle important dans l'étiologie des maladies infectieuses, soit en inoculant des agents pathogènes, soit en favorisant leur pénétration dans la paroi intestinale de leur hôte.

Bien que les observations relatées dans ce travail nous paraissent de nature à entraîner la conviction du lecteur, nous ne croyons pas inutile de publier d'autres faits précis montrant le bien fondé des idées qui y sont défendues et qui ont été inspirées à l'un de nous par notre maître M. Metchnikoff.

Lors d'un séjour que nous fîmes cette année à Tunis, nous avons eu l'occasion, grâce à l'obligeance de M. Ducloux, directeur du service de l'élevage, et à celle de MM. les vétérinaires Thuilier et Henry, d'examiner un grand nombre d'animaux à l'abattoir de cette ville.

Nous avons pu ainsi récolter un certain nombre de documents intéressants en ce qui concerne les lésions produites par les Helminthes qu'on rencontre dans ce pays.

Nous voulons consigner dans cette note quelques observations recueillies par nous, à l'abatage des porcs, et qui apportent un argument précieux en faveur de la thèse de l'inoculation des microbes par les vers intestinaux.

Il s'agit des lésions causées par l'Echinorynque géant. (*Gigantorhynchus gigas* Gœze).

« Ce dernier se présente sous forme d'un corps blanc laiteux, parfois nuancé de bleu ou de brun, cylindroïde, souvent renflé en divers points de sa longueur, montrant après la mort des rides transversales irrégulières » (Railliet).

1. M. WEINBERG, Du rôle des Helminthes, des larves d'Helminthes et des larves d'insectes dans la transmission des microbes pathogènes, *Annales de l'Institut Pasteur*, juin et juillet 1907.

Il possède une trompe rétractile munie de 5 ou 6 rangées de crochets recourbés en arrière. On peut parfaitement s'en rendre compte en passant la pulpe du doigt sur la trompe des individus de grande dimension. On sent alors très bien le picotement d'une surface hérissée d'épines.

On distingue très facilement le mâle de la femelle, qui est beaucoup plus longue et peut atteindre jusqu'à 30-35 centimètres, le mâle ne dépassant guère 10 centimètres.

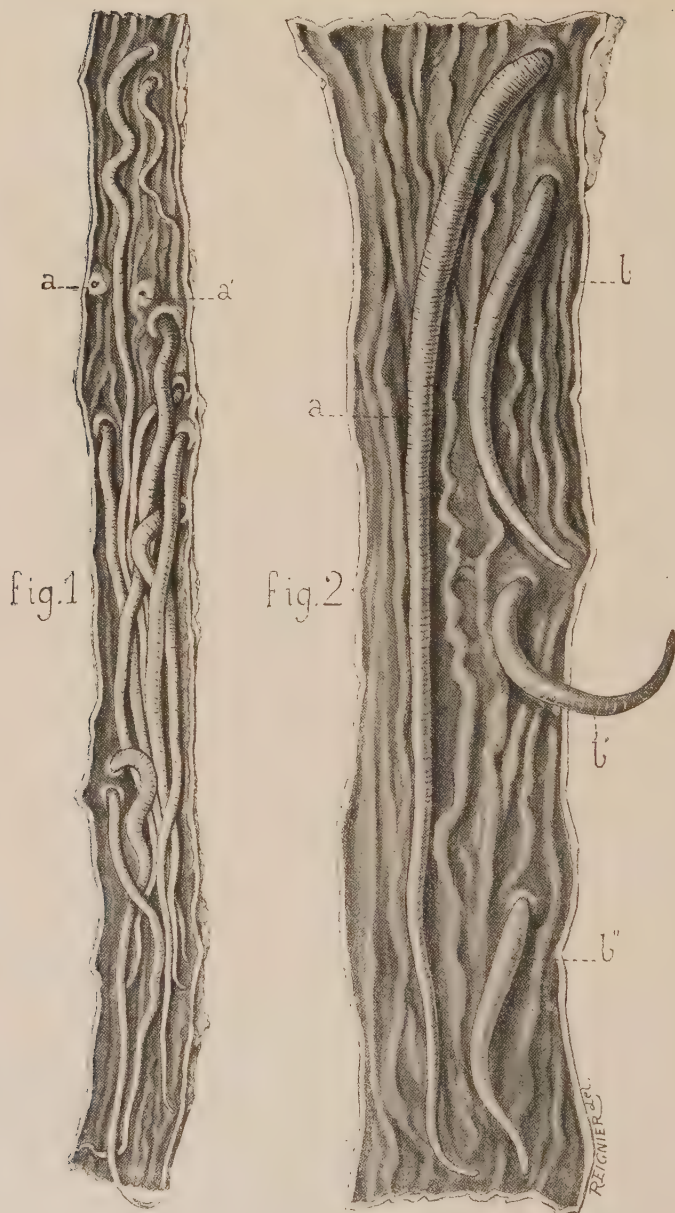
On comprend aisément qu'un parasite intestinal de cette taille et possédant un nombre aussi considérable de crochets puissants, doivent occasionner des lésions importantes de la paroi intestinale sur laquelle il se fixe, parfois si solidement, qu'il faut exercer une traction énergique pour l'en détacher.

On a écrit fort peu de choses sur les lésions déterminées par ce parasite. On trouve cependant quelques indications dans les articles de Kocoureck, Hurltel d'Arboval, etc. Ces auteurs ont bien remarqué que l'Echinorynque géant est capable de perforer la paroi intestinale du porc et de passer dans la cavité abdominale. On a constaté aussi quelquefois des lésions péritonéales et des adhérences intestinales; mais on n'a encore étudié ni l'étiologie ni la filiation des lésions observées. L'examen des pièces rapportées par nous de l'abattoir de Tunis nous permet de combler en partie cette lacune.

Nos recherches portent sur l'intestin de cinq porcs, chez lesquels nous avons trouvé un nombre considérable d'Echinorynques géants. Ces parasites étaient fixés presque tous sur la paroi de la première portion de l'intestin grêle. Les 4 figures que nous joignons à notre note permettront au lecteur de se rendre compte de la façon dont se fixe ce parasite et de l'aspect de quelques-unes des lésions causées par lui.

La figure 1 montre que les Echinorynques peuvent se fixer parfois si rapprochés et en si grand nombre qu'ils arrivent, par leur masse, à rétrécir considérablement le canal intestinal. Au point de fixation de leur rostre, la muqueuse forme un petit bourrelet saillant. On voit en *b* l'ulcération profonde produite par la fixation de cet animal. Quelquefois ce rebord est rouge, congestionné.

Lorsqu'on examine la surface péritonéale de l'intestin grêle de ces porcs, on est frappé du grand nombre de petites nodosités



*Fig. 1* (grandeur demi-nature). Echinorynques géants fixés sur la paroi de l'intestin grêle du porc. Leur nombre était, dans ce cas, si grand que par leur masse ils rétrécissaient considérablement le canal intestinal.

On voit en *a, a'*, des ulcérations profondes que laissent les parasites détachés. Ces ulcérations présentent un bourrelet saillant.

*Fig. 2* (grandeur nature). *a*, femelle d'Echinorynque; *b, b'*, mâles.



saillantes dans la cavité péritonéale, blanchâtres, brillantes et, ainsi que l'avait remarqué Kocoureck, assez semblables à des perles.

Tous ces nodules correspondent bien aux points de fixation des Helminthes sur la paroi intestinale.

La plupart d'entre eux sont situés du côté du bord de l'intestin; quelques-uns cependant font saillie contre le bourrelet graisseux du mésentère. D'autres se trouvent même dans son épaisseur. Nous n'avons pas eu l'occasion de constater de perforation intestinale due à l'intervention de l'Echinorynque.

L'étude histologique de nos pièces montre que l'Echinorynque ne produit pas toujours de véritables lésions inflammatoires au point de sa fixation sur la paroi intestinale.

Nous voyons en effet que, dans l'observation se rapportant à la figure 4, on constate une perte de substance due uniquement à l'action mécanique du parasite.

Ce dernier, en enfonçant sa trompe dans la paroi de l'intestin grêle, détruit d'abord la muqueuse et pénètre ensuite dans la sous-muqueuse qu'il lèse en général dans

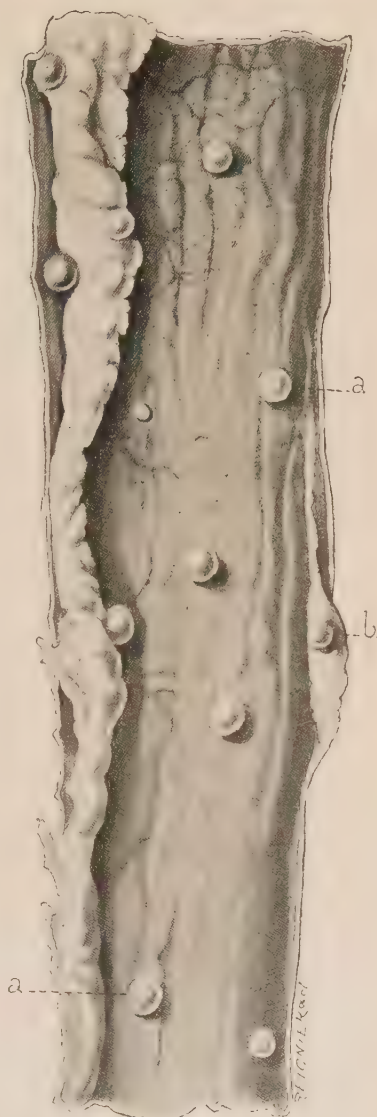


Fig. 3 (grandeur nature). Surface péritonéale d'une portion de l'intestin grêle sur lesquels sont fixés des Echinorynque géants. En *a*, *a'*, nodosités perlées correspondant aux points de fixation des parasites. *b*, un nodule faisant saillie à travers le bourrelet graisseux du mésentère.

toute son épaisseur. Il entame parfois la couche musculaire interne.

Dans quelques-unes de nos préparations on peut même voir que ce parasite est capable de détruire la couche musculaire interne dans toute son épaisseur, exclusivement par la pression qu'il exerce et l'action de ses crochets, sans produire autour de lui la moindre infiltration inflammatoire.

Lorsqu'on examine à un plus fort grossissement les coupes comprenant à la fois la tête du parasite et la paroi intestinale, on constate que la sous-muqueuse est tassée au voisinage de l'Echinorynque. Il en est de même pour les cellules musculaires, lorsque la couche musculaire interne est comprimée par le parasite. On trouve parfois dans ces coupes, de chaque côté de la tête du ver, une légère agglomération cellulaire qu'on pourrait prendre pour une infiltration. Cette infiltration n'est qu'apparente et ne représente que les vestiges de la muqueuse refoulée et comprimée par la partie latérale du rostre. Ce dernier, en s'enfonçant dans l'épaisseur de la paroi intestinale, refoule latéralement la muqueuse et la sous-muqueuse qui se plissent et forment le bourrelet dont nous avons constaté la présence à l'examen microscopique.

La muqueuse de l'intestin grêle présente au voisinage de l'Echinorynque une infiltration régulière, dans laquelle on reconnaît surtout des cellules éosinophiles. Cette infiltration par les cellules éosinophiles se retrouve dans toutes nos coupes, que la fixation de l'Helminthe s'accompagne ou non de lésions inflammatoires.

Tantôt elle est nettement limitée à la muqueuse, sans qu'on puisse trouver ailleurs des cellules éosinophiles; tantôt on peut voir un certain nombre de ces cellules dans d'autres couches et surtout dans la couche sous-péritonéale.

Les constatations que nous venons de faire nous permettent d'affirmer que l'Echinorynque géant peut se fixer sur la muqueuse intestinale du porc sans faire d'autres lésions que celles produites par un simple traumatisme aseptique.

Il n'en est pas toujours ainsi. Nous avons, en effet, pratiqué une série d'examen bactériologiques du contenu des nodules trouvés aux points de filtration des Echinorynques.

Pour cela, nous avons fait desensemencements après avoir

cautérisé au fer rouge la surface péritonéale du nodule, dont nous puisions le contenu dans une pipette effilée. L'ensemencement a été fait en milieux glycosés pour aérobies et anaérobies.

Dans beaucoup de cas nous avons ainsi obtenu des cultures, soit d'une seule espèce, soit de plusieurs espèces microbiennes.

De plus, nous avons constaté plusieurs fois, sur des coupes histologiques, une infiltration inflammatoire intense au point de fixation de l'Echinorynque. Cette inflammation doit être mise sur le compte des microbes qu'on trouve dans ces endroits et qui ont été, nous semble-t-il, inoculés par les parasites.

En effet, les coupes en série montrent bien que l'Echinorynque ne s'est pas fixé sur une ulcération préalable de la muqueuse.

Parmi les lésions produites par l'Echinorynque, il y en a une qui nous a surtout frappés et sur la description de laquelle nous allons nous arrêter un instant. Il s'agit des lésions d'entérite nécrosante infectieuse aiguë que nous avons trouvées au niveau des nodules inflammatoires saillants à la surface péritonéale, tels qu'ils sont représentés sur la figure 3.

La planche jointe à ce travail représente exactement ces lésions.

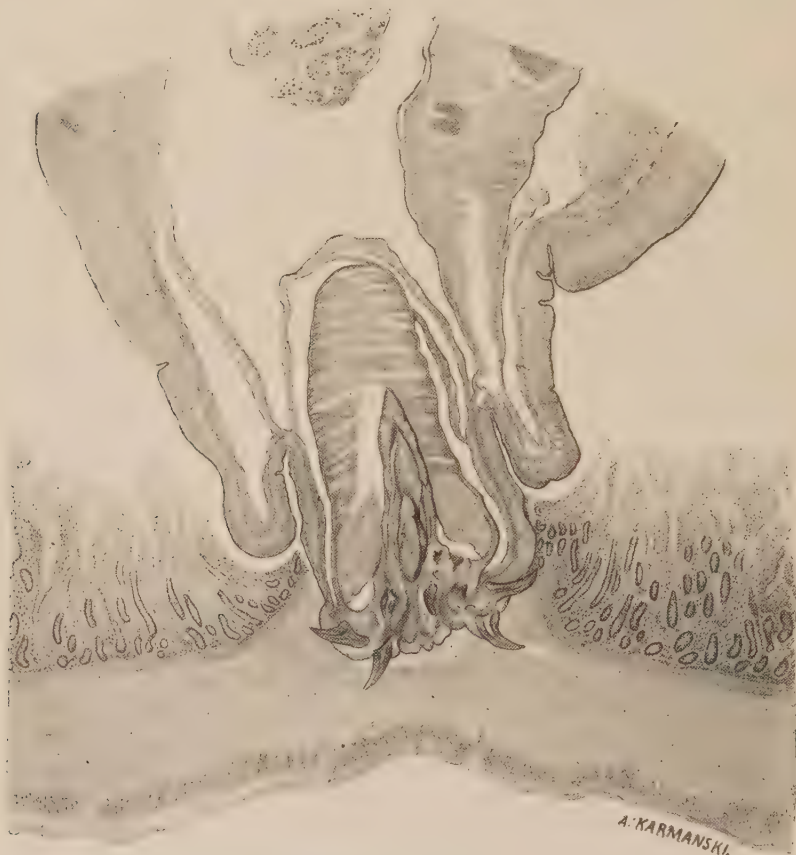
Lorsqu'on examine des coupes histologiques de la paroi intestinale passant au niveau de ces nodules, on constate que le rostre du parasite, enfoncé profondément dans la sous-muqueuse, est entouré de toutes parts par une masse d'un rose brillant qui représente les tissus nécrosés. Le placard nécrotique s'étend en s'élargissant vers la couche sous-péritonéale. Ainsi toute l'épaisseur de la paroi de l'intestin grêle est atteinte par le processus nécrosant à ce niveau. Cependant la région nécrosée présente à proximité de la tête de l'Echinorynque une teinte d'un rouge plus foncé que près de la région sous-péritonéale.

Cette différence tient à l'action plus ou moins intense du processus nécrosant dans ces deux régions.

La partie du placard nécrosé qui se trouve au voisinage immédiat du parasite ne montre pas un seul élément permettant de reconnaître la sous-muqueuse ou les couches musculaires atteintes par cette lésion. On ne trouve à leur place, à un



fort grossissement, que de brillantes et fines granulations. Au contraire, vers la région sous-péritonéale et dans le mésentère, les cellules nécrosées ont encore conservé en partie leur aspect morphologique.



*Fig. 4.* Cette figure montre une trompe d'Echinorynque fixée sur la paroi de l'intestin grêle du porc. Grossissement : 32 diamètres. On voit que le parasite, en enfonçant sa trompe, a détruit sur son passage la muqueuse et la sous-muqueuse et qu'il enfonce ses crochets antérieurs dans la couche musculaire interne. On ne voit pas d'infiltration inflammatoire autour de la trompe de l'Echinorynque.

Cependant, la plupart d'entre elles ne montrent plus de noyau. La couche nécrosée est entourée, de chaque côté, par un vaste placard d'infiltration inflammatoire qui s'étend de la muqueuse vers la couche sous-péritonéale et vient se confondre avec l'infiltration du mésentère. Même à un faible grossisse-

ment, on constate, à la périphérie de la zone inflammatoire, des trainées de cellules éosinophiles. On retrouve également ces cellules dans les couches musculaires du voisinage,

A un fort grossissement, on y voit surtout des cellules mononucléaires mêlées à des cellules éosinophiles, dont le nombre croît à mesure qu'on s'éloigne du placard nécrosé.

La plupart des capillaires que l'on trouve à ce niveau montrent les cellules endothéliales très tuméfiées. Il en est de même pour les vaisseaux lymphatiques.

Sur les coupes colorées par la thionine, on constate la présence d'un nombre considérable de microbes au niveau du placard nécrosé. Ces microbes se présentent sous forme de bâtonnets qui ne se colorent pas par la méthode de Gram.

On retrouve les mêmes microbes sur la paroi du rostre de l'Echinorynque, ainsi que dans la zone d'infiltration péri-nécrotique où ils sont moins nombreux.

Il nous paraît évident que l'entérite nécrosante que nous avons décrite est due à un bacille inoculé dans la paroi intestinale par la tête du parasite.

On comprend alors le mécanisme de la perforation qui se produit dans les cas semblables. La paroi nécrosée cède à la poussée de l'Echinorynque qui enfonce toujours en avant sa partie rostrale. Il se fait une perforation à travers laquelle le parasite passe dans la cavité péritonéale.

Dans les cas que nous avons étudiés, la perforation ne s'est pas produite parce que le placard nécrosé a été protégé par le mésentère qui n'a été atteint par le processus nécrosant que dans sa portion la plus interne. Ce fait a été constaté maintes fois par l'un de nous au cours de ses recherches sur l'appendicite nécrosante. Lorsque ce processus aigu détruit la paroi appendiculaire, le malade peut échapper à la perforation intestinale, quand la lésion en question siège du côté du méso-appendice.

#### CONCLUSIONS

1. En se fixant sur la paroi intestinale du porc, l'Echinorynque géant peut détruire, par des moyens purement mécanique, la muqueuse, la sous-muqueuse, et même la couche musculaire interne, sans produire autour de lui la moindre lésion inflammatoire.

La présence des cellules éosinophiles, qu'on trouve disséminées dans le chorion de la muqueuse au voisinage des Echinorynques fixés sur la paroi de l'intestin grêle, est tout à fait indépendante de la nature des lésions provoquées par les Helminthes en question.

2. Dans certains cas, ce parasite inocule, par son rostre, dans la paroi intestinale, des agents pathogènes qui déterminent soit une entérite infectieuse banale, soit une entérite nécrosante aiguë pouvant amener une perforation intestinale.

3. L'étude des lésions causées par l'Echinorynque géant apporte un nouveau et sérieux argument en faveur du rôle des Helminthes dans l'étiologie de certaines lésions infectieuses.

#### *Explication de la planche. XXII.*

*Fig. 1.* Coupe histologique d'un nodule inflammatoire trouvé au point de fixation de l'Echinorynque géant sur l'intestin grêle du porc. Coloration par l'hématéine-éosine. Grossissement; 40 diamètres.

a) Partie céphalique du parasite dont la trompe a traversé la muqueuse, la sous-muqueuse et les couches musculaires. Il s'est formé autour de la trompe un vaste placard de tissus nécrosés (b) qui s'étend jusque dans le mésentère.

c) Zone d'infiltration inflammatoire autour du placard de nécrose.

d) Un foyer nécrotique dans la partie profonde du mésentère.

*Fig. 2.* Coupe histologique du même nodule coloré par la thionine.

a) représente la paroi de la trompe de l'Echinorynque géant tapissée par un nombre considérable de bacilles colorés en bleu par la thionine.

b) Région nécrosée qui se trouve au voisinage immédiat du parasite. Cette région montre également beaucoup de mêmes microbes.

c) Zone d'infiltration cellulaire péri-nécrotique dans laquelle, au milieu des cellules mononucléaires, on trouve des microbes et des granulations nucléaires résultant de la désagrégation d'un certain nombre de leucocytes.

---



# Les Trypanosomiasés de la Haute-Côte d'Ivoire.

## Note préliminaire.

PAR LE D<sup>r</sup> G. BOUET

Médecin-major des troupes coloniales, chargé de mission scientifique par le Gouvernement général de l'Afrique occidentale française.

Dans une note précédente<sup>1</sup>, nous avons signalé l'existence en Basse-Côte d'Ivoire d'au moins une trypanosomiasé animale, due à *Trypanosoma dimorphon*. Le virus provenant d'une vache infectée, envoyé en France, y a été reconnu comme ne différant pas du *T. dimorphon* type, tel qui existe actuellement dans les laboratoires<sup>2</sup>.

Nous signalions également l'existence enzootique de *T. Casal-boui*, trouvé chez un jeune veau qui n'avait pu avoir de contact avec des bœufs importés, d'origine soudanaise ou sénégalaise, bœufs fréquemment atteints de *T. Casal-boui*.

Enfin nous avons constaté, chez le chien en Basse-Côte d'Ivoire, l'existence d'un trypanosome qui se rapproche plus du type Togo-Nagana de Schilling que du type *Pecaudi*, que vient de décrire Laveran<sup>3</sup>.

Poursuivant nos recherches depuis cette époque, nous avons successivement visité le Baoulé, région de savanes, se rapprochant, botaniquement, sinon ethnographiquement, beaucoup de la zone soudanaise et qui, actuellement, est le trait d'union, par sa route principale, entre la Haute-Côte d'Ivoire et la Basse-Côte ; puis la région de Kong, actuellement rattachée administrativement à la Côte d'Ivoire, ce dernier territoire en réalité fait partie de l'ancien Soudan aujourd'hui démembré, et dont la colonie du Haut-Sénégal-Niger n'a conservé qu'une partie, abandon-

1. Ces *Annales*, juin 1907.

2. Morphologiquement et d'après son action pathogène pour la souris, ce virus du Dr Bouet nous a paru identique au *dimorphon* type (voir LAVERAN et MESNIL, *Trypanosomes et Trypanosomiasés*, p. 209-212). Toutes les formes manquaient de flagelle libre. Nous sommes persuadé que cette absence est un caractère constant du *T. dimorphon sensu stricto*. Il est de plus en plus probable que DUTTON et TOB, en Gambie, ont observé chez le cheval plusieurs Trypan, distincts : ils n'ont sans doute ramené à Liverpool que l'espèce sans flagelle libre. — F. MESNIL.

3. Ces *Annales*, mai 1907.

nant certaines régions à la Guinée (Haute-Guinée) et à la Côte d'Ivoire.

Il était donc naturel de penser qu'on y rencontrerait les trypanosomiasés qui règnent en Haute-Guinée comme celles du Haut-Sénégal-Niger.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il nous paraît impossible de dire si les trypanosomiasés dues à *T. dimorphon*, *T. Pecaui* et *T. Cazalboui*, trouvées dans la Haute-Côte d'Ivoire, y sont enzootiques depuis longtemps ou si elles sont d'importation récente. Pour celle due à *T. Cazalboui*, nous pencherions pour cette dernière hypothèse. Pour les autres trypanosomiasés, le problème nous semble loin d'être résolu.

Quoi qu'il en soit, nous allons indiquer à grands traits les routes commerciales qui aboutissent à ces régions et servent à un très important et incessant trafic d'animaux domestiques.

Nous avons dit dans notre première note quelles étaient les voies d'accès de la Haute-Côte d'Ivoire à la Basse-Côte. Actuellement il n'y en a que deux : celle de Baoulé par Bouaké et Toumodi vers Tiassalé-Lahou ; puis celle de Bouna, Bondoukou vers Aboisso-Assinie. Une troisième se formera avec le chemin de fer.

Pour la Haute-Côte, le nombre des routes est de beaucoup plus considérable ; les plus importantes sont parallèles aux méridiens et viennent du nord ; il y en a 5 ou 6. Quelques-unes viennent de la Guinée par l'ouest. Il n'en est aucune venant de l'est.

Ce sont, au contraire, nos caravanes qui approvisionnent en viande de boucherie et en chevaux la colonie anglaise voisine de la Gold-Coast par Bondoukou.

Dans l'étude qu'il a publiée sur les trypanosomiasés de la Guinée française, le Dr G. Martin a montré que la Guinée, elle aussi, était tributaire des régions de la boucle du Niger en même temps que du fleuve Sénégal.

En Haute-Côte d'Ivoire, c'est surtout la boucle du Niger qui approvisionne le marché ; mais quelques animaux, surtout des bœufs et des ânes, viennent parfois des régions guinéennes (Fouta-Djallon), et surtout de la Haute-Guinée (Kankan, Siguiri).

Egalement, des Maures de la région du Sahel apportent des

bœufs, des moutons et des ânes jusqu'aux confins de la forêt de la Côte d'Ivoire. Un important commerce de noix de kola permet, en effet, à ces traitants de remonter, chargés du précieux produit, dans les pays soudanais. Laveran, dans le travail que nous avons cité, faisait remarquer, d'après le vétérinaire Pierre, que la transhumance du bétail soudanais, due à la perception de l'impôt en nature, était une cause de dispersion des maladies à trypanosomes.

Le libre trafic et la demande continuelle des régions presque dépourvues de bétail autochtone, comme la Basse-Côte d'Ivoire ou jadis dépeuplées de leur cheptel par Samory, comme la zone de Kong à Odienné et Touba, sont également des facteurs dont l'importance n'échappera pas et qu'il semble difficile de supprimer ou même simplement d'atténuer. La prospérité de ces pays est faite, pour beaucoup, de ces échanges avec le Soudan : bœufs et chevaux à l'importation ; noix de kola à l'exportation.

De tout ce que nous venons d'exposer, il résulte que l'on rencontre en Haute-Côte d'Ivoire des animaux domestiques, — bœufs à bosse pour la boucherie ou le transport, bœufs sans bosse pour la reconstitution du cheptel, chevaux, ânes, moutons, — provenant des régions soudanaises, qui se mélangent aux troupeaux autochtones récemment reconstitués dans certaines parties par des apports semblables, plus anciennement dans d'autres. Rares encore actuellement sont les centres où l'on trouve des bœufs adultes nés sur place.

Quant au Baoulé, qui a des troupeaux autochtones (bœufs, moutons, chèvres), nous avons déjà signalé le danger de l'importation du bétail soudanais dans cette région.

Adoptant le plan que nous avons suivi dans notre précédente note, nous passerons successivement en revue les divers animaux domestiques que nous avons rencontrés,

CHEVAL. — Jusqu'à Toumoudi (Baoulé), nous n'avions pas rencontré de chevaux. Le premier qu'il nous fut donné de voir venait des environs de Ségou (Haut-Niger) et se trouva être atteint de *T. Pecaui* dont il mourut, du reste. A partir de ce point, il n'est pas une agglomération un peu importante qui ne possède quelques échantillons de la race chevaline. Nous avons examiné jusqu'ici 125 chevaux sur lesquels 35 ont présenté, à

l'examen pratiqué en général une seule fois, des trypanosomes.

L'observation continue d'un cheval atteint de trypanosomiase nous a démontré que l'animal n'a pas chaque jour régulièrement des hématozoaires dans le sang périphérique. Nous basant sur un symptôme constant, que nous considérons comme presque infailible : l'autoagglutination des globules rouges et le plaquage du sang, nous sommes convaincu que 100 animaux sur 125 devaient être atteints de trypanosomes. Ce symptôme de l'autoagglutination est constant chez le cheval et l'âne. Nous pensons même que le type de l'agglutination diffère selon le trypanosome auquel on a affaire. C'est ainsi que, avec *T. dimorphon*, la maladie, toujours d'assez longue durée, produit surtout le plaquage du sang; les globules sont tous agglutinés par ilots et presque impossibles à distinguer les uns des autres.

Avec *T. Pecaui* et surtout *T. Cazalboui*, qui sont avec le *dimorphon*, les trois trypanosomiasés qu'il nous a été donné de rencontrer chez le cheval, l'agglutination est nette, les globules facilement distincts les uns des autres, toujours réunis par 6 ou 7 au plus, et le sang n'est en général pas plaqué. Toutes les fois qu'il nous a été donné de constater ce plaquage ou cette agglutination, sans trouver une première fois des trypanosomes dans le sang et qu'en même temps nous avons pu suivre l'animal et pratiquer des examens répétés de son sang, nous avons toujours fini par déceler une trypanosomiase.

Quelle est la proportion de chacune des trypanosomiasés observées par nous chez le cheval? Le problème, pour être résolu, eût nécessité l'examen de lames colorées de tous les animaux contaminés, sans préjudice des inoculations à des animaux sensibles. Nous pensons qu'avec un peu d'habitude, les trois trypanosomes sont relativement faciles à distinguer sur des préparations colorées. Pour *T. Cazalboui* et *T. Pecaui*, Laveran a indiqué les différences morphologiques très nettes qui les séparent. Entre *T. Pecaui* et *T. dimorphon*, quand ce dernier se présente sous les formes en têtard, petites et trapues, sans flagelles libres, le diagnostic est facile. Quand, à côté de ses formes, on en trouve d'autres, à flagelle libre, comme Dutton et Todd en ont signalé en Gambie, il est probable qu'il y a double infection, et la différenciation devient plus délicate; ces cas sont d'ailleurs très rares. Probablement même parmi



les trypanosomes vus jadis par Dutton et Todd, il y avait du *T. Pecaudi*.

Sur nos 35 chevaux contaminés, nous avons coloré les hématozoaires de 12 d'entre eux : 3 avaient *T. dimorphon* (petites formes seules), 3 *T. Cazalboui* et 6 *T. Pecaudi*. Tous les chevaux atteints de *T. Pecaudi* que nous avons pu suivre sont morts. Pour les autres trypanosomes, nos observations sont incomplètes ou inachevées.

Nous croyons que, de toutes les trypanosomiasés sévissant sur le cheval en Haute-Côte d'Ivoire, c'est celle due à *T. Pecaudi* qui est la plus grave, celle dont la durée est la plus courte et dont la guérison est la plus rare, si même elle se produit.

Une autre question se pose. Est-il cliniquement possible de distinguer les 3 trypanosomiasés du cheval les unes des autres ?

La chose nous semble difficile surtout entre *T. Cazalboui* et *T. dimorphon*. Pour *T. Pecaudi*, la rapidité des accidents (qui sont, même pour un clinicien, identiques à celles des autres trypanosomiasés) permet peut-être d'assurer un diagnostic clinique.

En tous cas, les lésions à l'autopsie nous ont paru les mêmes qu'avec les deux autres trypanosomes : anémie généralisée et, partant, œdème ; hypertrophie de la rate, souvent du foie, hypertrophie ganglionnaire généralisée, congestion ou anémie du rein, sérosité dans les cavités closes (plèvre, péritoine, péricarde).

D'ailleurs nous ne faisons ici qu'indiquer ce point particulier qui aura une importance considérable le jour où l'on pourra traiter l'une ou l'autre de ces trypanosomiasés.

Avant d'en terminer avec le cheval, nous ajouterons que dans une même localité nous avons pu trouver les trois trypanosomiasés chez des animaux habitant depuis plus de trois ans le lieu d'observation.

Quant aux animaux nés et élevés dans le pays (il y en a fort peu), ils ne nous ont pas paru plus réfractaires aux divers trypanosomes que ceux d'importation.

ANE. — Le trafic incessant des régions soudanaises du nord avec les pays qui constituent la Haute-Côte d'Ivoire et les régions limitrophes de la forêt où pousse le kolatier, amène

chaque année des milliers d'ânes. Peu ou pas d'élevage de ce solipède est pratiqué dans les pays que nous venons de traverser. Les voyages de plusieurs mois consécutifs qu'accomplissent ces animaux, et partant la possibilité d'infection par les glossines à tous les passages des rivières ou des marigots, expliquent le fort déchet par trypanosomiasés que subit l'âne en pays soudanais. Il est donc plus que tout autre le « réservoir à virus » pour les mouches sur les routes des caravanes. La proportion d'animaux infectés est vraiment extraordinaire. Tous les ânes que nous avons rencontrés ont été examinés. Il n'y a donc pas eu recherche systématique des animaux paraissant malades. 160 ânes ont été vus depuis Toumodi, 86 étaient contaminés, plus de 1 sur 2. Les remarques faites à propos du cheval sont vraies pour l'âne. Les trois trypanosomes *T. dimorphon*, *T. Pecaui* et *T. Cazalboui* se rencontrent chez lui. Sur 15 ânes dont nous avons étudié le virus, 2 étaient porteurs de *T. dimorphon*, associé chez l'un à *T. Cazalboui*, chez l'autre à *T. Pecaui*, 6 de *T. Pecaui*, 7 de *T. Cazalboui*.

Rarement, pensons-nous, ces animaux résistent à leurs trypanosomiasés. Des ânes appartenant à des Européens ont succombé malgré les soins dont ils étaient entourés. La même observation, du reste, s'applique aux chevaux. On se fait difficilement une idée du nombre formidable de bêtes de somme qui meurent en ces pays. En deux ans, un caravanier nous a dit avoir perdu, les uns après les autres, 7 ânes sur 7.

BOEUF. — Dans notre étude précédente, nous avons montré que c'était surtout *T. dimorphon* qui se rencontrait chez les bœufs autochtones de la Basse-Côte d'Ivoire. Les animaux que nous avons depuis rencontrés, en dehors de la race Baoulé, qui est identique à celle de la forêt, venaient de la région du Haut-Niger ou de la Haute-Guinée, soit originellement, ou bien étaient nés, dans le pays, de bœufs jadis importés des mêmes régions.

Tout d'abord il y a lieu de distinguer les bœufs dits à bosse, originaires soit du Macina, du Mossi ou encore de la région du Sahel (Moussis).

Cette race, à puissante ossature, est excessivement sensible au virus du *T. Cazalboui*. Est-ce parce que son principal pays

d'origine, le Macina, est très contaminé? Problème non encore résolu, mais il est bon de faire remarquer, de plus, que les voyages en gros troupeaux auxquels on soumet ces animaux sont vraiment extraordinaires. Il y a plus de 1,000 kilomètres de Bandiagara (Macina) à Tiassalé (Baoulé); trois mois sont nécessaires pour effectuer le trajet, soit une moyenne de 13 kilomètres par jour. Dans ces conditions, il n'y a pas lieu de s'étonner de trouver un pourcentage élevé d'animaux contaminés.

Entre Tiassalé et Bouaké, en deux mois et demi d'observation, nous avons vu 115 bœufs à bosse du Macina, du Minianka (San) ou du Mossi: 49, à peu près la moitié, étaient contaminés et porteurs de *T. Casalbowi*. Quelques exemplaires de bœufs de même race, mais venant de la région du Sahel, vus par nous dans la suite de notre voyage et servant comme bœufs porteurs à des marchands de kola, étaient également atteints de *T. Casalbowi* et quelques-uns présentaient conjointement un piroplasma ayant les caractères morphologiques de *Piroplasma mutans* (Theiler).

Une autre race, rencontrée au cours de notre voyage dans pays baoulé, appartenait au type autochtone de la Basse-Côte et nous la désignerons sous le nom de bœuf baoulé, simple variété de la race de la forêt. On en peut évaluer le nombre à plus de 6,000 individus. Ce sont des animaux très sauvages, d'aspect très beau, bien rablés, que les indigènes disent ne jamais être malades.

Les quelques exemplaires (une vingtaine) qu'il nous fut donné de voir n'étaient pas porteurs de trypanosomes. Cependant la race est sensible à *T. Casalbowi* expérimental, car une génisse que nous avons inoculée, est morte en 43 jours.

Enfin l'arrière-pays, c'est-à-dire la Haute-Côte, renferme surtout des bœufs sans bosse, à longues cornes, au pelage fauve, répandus depuis le Fouta-Djallon, qui est peut-être leur berceau d'origine, la Haute-Guinée, la région Bamako-Ségou. C'est le type que nous appellerons guinéen.

Dans la boucle du Niger et de la Volta, le pays Lobi, il existe une ou plusieurs variétés à cornes moins longues, à pelage varié, également sans bosse, plus petite que le type guinéen, mais comme ce dernier plus résistante aux divers trypanosomes.

Répandues dans la Haute-Côte d'Ivoire, ces deux ou trois variétés sont celles qu'on trouve dans tous les villages, où les indigènes ne sacrifient guère que ceux qui sont malades. Ce sont ces races qui sont en train de reconstituer le cheptel du pays. Il est hors de conteste qu'elles paient un tribut bien moins élevé aux trypanosomiasés que les bœufs à bosse.

Sans entrer ici dans le détail, nous dirons seulement que le nombre total d'animaux de ces variétés sans bosse, vus par nous, dépasse actuellement 250. L'examen du sang de ces bœufs nous a permis de déceler 20 fois des trypanosomes. Quelques lames colorées et quelques inoculations à des animaux de laboratoire nous ont montré qu'on avait surtout à faire à *T. Cazalboui*, plus rarement à *T. dimorphon* et plus rarement encore à *T. Pecaui*. Ajoutons que bon nombre de ces bovidés doivent guérir.

Les indications tirées du phénomène d'auto-agglutination, si précieuses chez le cheval et l'âne, ne nous paraissent pas avoir chez le bœuf, le mouton et la chèvre, la haute valeur que nous leur accordons chez les Equidés. L'auto-agglutination existe à peine. Le plaquage du sang se présente parfois et seulement à la période ultime de la maladie.

Moutons. — En Haute-Côte comme en Basse-Côte, ces animaux sont rarement contaminés ou du moins l'examen de leur sang révèle rarement l'existence de trypanosomes. Les races rencontrées viennent originairement du Soudan, à l'exception de la race autochtone du Baoulé qui est la même que celle de la Basse-Côte. Cependant, déjà des moutons de race à grandes pattes du Soudan ont fait leur apparition sur les marchés baoulés de Tiassalé-Toumodi.

A Bouaké, l'importation des diverses races est active, ainsi du reste que dans toute la Haute-Côte. Le mouton de race maure des bords du Sénégal ou du Sahel se rencontre parfois, en particulier sur les marchés à kolas.

La race baoulé nous a donné, sur 53 examens, 2 cas de contagion.

La race d'origine soudanaise, de petite taille, née sur place ou importée, nous a fourni, pour un total de 163 examens, 7 cas dus à *T. Cazalboui*.



La race maure à grandes pattes, provenant du Sahel en général, examinée un ou deux jours après son arrivée, nous a fourni, sur 52 animaux, 5 cas imputables à *T. dimorphon* (petites formes seules). Jusqu'ici nous n'avons pas rencontré *T. Pecaui* chez le mouton.

CHÈVRES. — Déjà rares chez le mouton, les trypanosomiasés se présentent plus rarement encore chez la chèvre. En Basse-Côte, nous n'avons trouvé qu'une seule fois *T. dimorphon* chez cet animal. En Haute-Côte, sur 423 chèvres soumises à notre examen, une seule fois nous avons pu déceler la présence d'un trypanosome, *T. Cazalboui*, vérifié du reste expérimentalement.

PORCS. — En pays musulman comme la Haute-Côte, il n'y a pas de porcs, sauf dans les centres où ils sont une ressource pour les Européens qui les y ont d'ailleurs importés.

Nous avons déjà signalé l'existence de *T. dimorphon* (petites formes seules) chez le porc de la Basse-Côte d'Ivoire.

A Bouaké, les nombreux porcs qu'on y trouve viennent originairement de la Basse-Côte. Ceux que nous avons examinés étaient nés sur place et n'avaient jamais quitté cette localité. Sur 20, 4 avaient des trypanosomes. Le seul d'entre eux, un jeune porcelet, que nous avons suivi expérimentalement, renfermait *T. Pecaui*, affection dont il a guéri du reste. Un porc neuf inoculé avec 10 c. c. de son sang ne s'est pas infecté. Nous n'avons pu nous rendre compte si le porcelet avait l'immunité, car il est mort accidentellement au moment où nous pensions l'inoculer à nouveau avec *T. Pecaui*. Quoiqu'il en soit, les porcs sont excessivement résistants et ils ne meurent pas, sauf accidentellement. Nous sommes même amené à penser qu'ils jouent, vis-à-vis des animaux domestiques, le rôle de « réservoir à virus », dévolu surtout au gros gibier dans l'Afrique du Sud.

Le porc n'est pas sensible à *T. Cazalboui*. 10 c.c. de sang, renfermant de très nombreux trypanosomes, ne l'infectent pas. Nous avons renouvelé plusieurs fois cette expérience.

CHIENS. — Depuis Toumodi (Baoulé), le nombre de chiens examinés dans tous les centres et villages importants s'élève à plus de 100 parmi lesquels 6 ont été trouvés porteurs de try-

panosomes. Autant le chien sédentaire de l'indigène nous a paru assez peu fréquemment atteint, autant le chien d'origine indigène et surtout ceux qui sont métissés, appartenant à des Européens qui se déplacent fréquemment, sont sensibles au virus. Les trypanosomes dont étaient porteurs 5 des chiens suivis expérimentalement appartenaient à deux types différents, peut-être à trois : *T. dimorphon* (à petites formes seules) et *T. Pecaudi*. Nous avons mentionné en Basse-Côte un trypanosome se rapprochant du type Togo-Nagana. Nous l'avons peut-être retrouvé à nouveau depuis. *T. Pecaudi* cause rapidement la mort de l'animal qui en est atteint. Chez un jeune chien, nous l'avons vu évoluer en moins de 10 jours.

Malgré le nombre très élevé de mammifères sauvages de toutes sortes qu'il nous a été donné d'examiner, nous n'avons pas rencontré de trypanosomes à l'examen du sang, sauf chez un Muridé : *Arvicanthus barbarus pulchellus*, espèce très voisine de *A. pumilio*, chez laquelle Dutton et Todd ont signalé *T. Lewisi*. Notre rongeur était porteur du même *Lewisi* ou d'une espèce voisine.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES. TRANSMISSIONS DE *T. Cazalboui* PAR  
*Glossina palpalis*

Le cadre de cette note ne nous permet pas de rapporter ici les diverses recherches expérimentales auxquelles nous nous sommes livré avec nos trois trypanosomiasés. Elles ne font du reste que corroborer les résultats magistralement exposés par Laveran (*op. cit.*). Nous signalerons quelques points seulement qui nous paraissent devoir être mis en lumière actuellement.

T. CAZALBOUI. — Dans l'inoculation expérimentale de cette maladie, nous avons toujours constaté, chez le rat tout au moins, que l'inoculation de 4 à 5 c. c. et même moins d'un sang renfermant de nombreux trypanosomes, produisait, après une incubation variant de 5 à 8 jours, l'apparition de très rares trypanosomes dans le sang du rongeur ; que ces trypanosomes se montraient deux ou trois jours pour disparaître ensuite d'une façon définitive. Une réinoculation de 3 à 4 c. c. de sang virulent ne reproduisait pas l'apparition de trypanosomes. Ces faits ne se sont jamais produits avec l'inoculation du virus au singe, au chien, au porc, que nous avons souvent pratiquée pour établir le diagnostic différentiel de cette maladie.

D' près Laveran, l'examen histologique du sang des bovidés, ovidés ou caprins, atteints de *T. Casalboui*, est toujours négatif. Nos expériences, par contre, nous ont montré que les trypanosomes chez la chèvre et le mouton se montraient par poussées de 2 à 4 jours pour disparaître pendant 3 à 6 jours, affectant une sorte de périodicité. La durée de la maladie chez la chèvre, toujours mortelle, a été de 2 mois à 2 mois et demi et l'incubation de 8 à 10 jours, quelquefois plus.

Il était intéressant de rechercher si les stomoxes seuls étaient susceptibles de convoyer *T. Casalboui*. L'expérience de Bouffard, irrécusable au point de vue expérimental, laisse cependant un point dans l'ombre. Il ne nous dit pas s'il y a multiplication des flagellés dans le tube digestif des stomoxes, puis inoculation de ces flagellés de culture 12 ou 24 heures après la piqûre initiale. Les stomoxes sont peut-être seulement des transmetteurs directs. Quoi qu'il en soit et n'ayant pas poussé nos investigations de ce côté, nous avons pensé à renouveler avec *T. Casalboui* nos expériences faites avec *T. dimorphon*. Comme, dans les pays que nous avons traversés, les tsétsés sont excessivement communes, comme les stomoxes du reste, il était naturel d'expérimenter avec les glossines, malgré l'opinion de Casalbou que les tsétsés devaient être mises hors de cause dans la propagation de *T. Casalboui*. Deux expériences sur deux ont pleinement réussi.

En voici le résumé :

#### EXPÉRIENCE I.

Un cabri est inoculé avec le sang d'une chèvre à infection à *T. Casalboui* (contrôlé par inoculation aux singe, chien et porc) et contracte la maladie. Trois mouches (*Glossina palpalis*), provenant d'un lot de 10 (les 7 restantes, examinées, n'avaient pas de trypanosomes « sauvages »), sont mises à piquer le cabri malade et dont le sang renferme des trypanosomes. Elles ne sont ensuite portées qu'après intervalles de 24 heures ou plus sur un très jeune cabri, neuf, âgé de 8 à 10 jours et dont le sang ne renferme pas de trypanosomes, pas plus que le sang de sa mère du reste (examiné pendant les 8 à 10 jours qui précèdent l'opération). D'après nos notes, les trypanosomes du cabri malade ont été assez nombreux ou non rares au moment de la piqûre des mouches.

Le 29 juillet, 3 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 30, 1 mouche est morte; elle est examinée, mais tardivement et ne présente pas de trypanosomes dans la trompe et le tube digestif; les 2 autres piquent le cabri neuf. (24 heures se sont écoulées depuis les piqûres de la veille.)

Le 31 juillet, les 2 mouches sont remises sur le cabri contaminé et piquent.

Le 1<sup>er</sup> août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 2 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 3 août, les mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Les 4 et 5 août, les mouches ne sont pas mises à piquer.

Le 6 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 7 août, les mouches ne sont pas mises à piquer.

Le 8 août, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 9 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Les 10, 11 et 12 août, les mouches ne piquent pas.

Le 13, les deux mouches piquent le cabri contaminé.

Le 14 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Les 15, 16, 17, 18 août, les mouches ne piquent pas; elles meurent sans être examinées.

Le 19 août, le cabri, qui a été examiné tous les jours, renferme des trypanosomes dans son sang, soit 19 jours après la première piqûre. L'examen en lames colorées montre qu'on a affaire à *T. Casalboui*, morphologiquement facile à reconnaître.

Le cabri, suivi chaque jour, présente des trypanosomes presque tous les jours jusqu'au 30 août, date de sa mort.

Pendant toute la durée de l'expérience, le cabri a été tenu dans une cage grillagée.

#### EXPÉRIENCE II.

Les mêmes précautions pour le cabri neuf sont prises. — Le virus provient de 2 sources : le cabri inoculé de l'expérience précédente et le jeune cabri qui a contracté la maladie par des piqûres de mouches. — Les mouches sont mises tantôt sur l'un, tantôt sur l'autre, suivant le nombre des trypanosomes du sang virulent.

Les trypanosomes, dans le sang des animaux contaminés, ont été très nombreux, nombreux ou rares au moment de la piqûre des mouches. Les mouches ont été nourries pendant 3 jours sur un cynocéphale sphinx, avant le début de l'expérience.

Le 19 août, 4 mouches piquent les chèvres malades.

Le 20 août, 2 des mouches piquent le cabri neuf (intervalle 12 h.).

Le 21 août, 2 mouches piquent les chèvres contaminées.

Le 22 août, 2 mouches piquent le cabri neuf (12 h.).

Le 23 août, 3 mouches piquent les chèvres contaminées.

Le 24 août, 1 mouche pique le cabri neuf (24 h.), 1 (28 h.).

Le 25 août, 1 mouche pique les chèvres contaminées.

Le 26 août, 1 mouche (la précédente) pique le cabri neuf (28 h.).

Le 26 août, également 1 mouche (ancienne) et 1 neuve (depuis 10 jours nourrie sur *Cynocephalus sphinx*) piquent un cabri contaminé.

Le 27 août, les 2 mouches, mises sur le cabri contaminé la veille, piquent le cabri neuf (30 h.).

Le 28 août, 2 mouches piquent un cabri contaminé.



Le 29 août, les 2 mouches piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 30 août, 3 mouches piquent un cabri contaminé.

Le 31 août, 2 des mouches piquent le cabri neuf (24 h.), la troisième mouche (38 h.).

Le 1<sup>er</sup> septembre, l'une des mouches est morte. Son intestin renferme d'assez nombreux trypanosomes très vivants, à flagelle très net, à corps épais, ramassé, à mouvements encore rapides; l'étude sera faite ultérieurement. — Les autres mouches ne sont pas mises à piquer.

Le 2 septembre, 2 mouches piquent un cabri contaminé.

Le 3 septembre, elles piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 4 septembre, les 2 mouches piquent le cabri contaminé.

Le 5 septembre, elles piquent le cabri neuf (24 h.).

Le 6 septembre, apparition des trypanosomes dans le sang du cabri neuf. Ce sont des *T. Cazalboui*.

18 jours se sont écoulés depuis la première piqûre. Actuellement le cabri est encore vivant et montre des trypanosomes dans son sang.

Nous ne parlerons pas de *T. Pecaudi*. Nos études en cours ne sont pas achevées sur ce trypanosome.

Quant au *T. dimorphon*, nous poursuivons également quelques recherches sur ce trypanosome qui feront l'objet d'une note ultérieure.

#### QUELQUES MOTS SUR NOS ESSAIS DE THÉRAPEUTIQUE

Nous avons essayé systématiquement sur *T. dimorphon*, naturel ou expérimental, les couleurs bleues Cl et Ph de Mesnil-Nicolle et le trypanroth d'Ehrlich (marque Grüber), puis l'atoxyl. Sauf le trypanroth<sup>1</sup>, dans l'infection naturelle chez le cheval et chez le chien, les autres couleurs n'ont même pas fait disparaître les trypanosomes le jour de l'injection, de même l'atoxyl à la dose de 0,50 centigrammes (les doses étaient probablement trop faibles). Avec le trypanroth, voici nos expériences :

Un cheval (le nôtre) s'infecte naturellement, et du 16 juin au 2 juillet montre des trypanosomes assez rares qui, inoculés au rat, l'infectent. Le 2 juillet, on injecte au cheval 50 centigrammes de trypanroth dans 50 c. c. d'eau. Le 3 on ne trouve pas de trypanosomes, le 5, le 8, pas de trypanosomes, le sang est toujours plaqué et l'agglutination très marquée; le 13, l'agglutination a diminué, plus de plaquage; le 22, elle est de moins en moins marquée et toujours pas de trypanosomes. Le 29, il n'y a plus d'agglutination, les globules sont bien ronds et non déformés. L'animal est en bel état, il

1. Ce qui est conforme aux résultats de Wenyon sur l'infection à *dimorphon* des souris. Nous nous proposons d'expérimenter avec la couleur  $\alpha$  de Mesnil-Nicolle que Wenyon a reconnue être la meilleure pour cette infection des souris.

est plus vif et ne baisse pas la tête. Il n'a plus de fièvre. Depuis cette époque, des examens fréquents ne nous ont pas montré de trypanosomes.

Un chien a été traité dans les mêmes conditions. Le premier jour, nous lui injectons 20 centigrammes d'atoxyl qui ne font pas disparaître les trypanosomes vus le lendemain à l'examen. Nous injectons alors 30 centigrammes de trypanroth (solution à 1/40). La température, qui le matin était à 38, tombe à 37<sup>o</sup>,7, et le lendemain à 37<sup>o</sup>. Il n'y a plus de trypanosomes ni de fièvre jusqu'au 9 au soir où nous apercevons un parasite dans toute la lame microscopique. Malheureusement depuis le début de sa maladie, le chien a refusé toute nourriture et nos essais pour le nourrir artificiellement sont vains. L'animal, d'origine européenne, succombe.

#### MOUCHES PIQUANTES. MALADIE DU SOMMEIL

Pour terminer, nous dirons quelques mots des mouches piquantes rencontrées depuis Toumodi jusqu'à Kong. Nous avons signalé déjà la présence à Toumodi de *Glossina morsitans*. On y trouve aussi *G. palpalis* et *G. fusca*. A Bouaké : *G. palpalis* et *fusca*. Aux environs de Mankono, le long d'un affluent du Bandama, le Béré, nous avons rencontré pour la première fois *G. tachinoides*. Les centres Séguéla, Touba, Odienné, Koroko, Tombougou, présentent *G. palpalis*, *morsitans*, *tachinoides*. Nous n'avons pas revu *G. pallicera*. Nos Stomoxes et nos Tabanides sont à l'étude. Ces derniers sont moins fréquents qu'en Basse-Côte; mais les *Hæmatopota* sont communs en hivernage.

Après des recherches nombreuses, facilitées grandement par l'Administration, nous avons fini par trouver des cas de maladie du sommeil dans le haut Baoulé à Bouaké (inoculation positive au singe). Puis successivement un cas (peut-être deux) à Marabadiassa; à Touba, deux cas; à Koro, un et peut-être deux cas; à Odienné, un cas (trypanosomes à l'examen du sang). A Koroko, 7 à 8 indigènes sont actuellement l'objet de nos recherches. Nous y reviendrons dans une étude d'ensemble. Il nous paraissait nécessaire de signaler ici l'existence de la trypanosomiasse humaine en Haute-Côte d'Ivoire.

Koroko, le 20 septembre 1907.

---

# Contribution à l'étude des Opsonines

PAR J.-G. SLEESWIJK (LEYDE).

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

---

Les recherches de Metchnikoff et de son école ont mis en évidence l'importance de la phagocytose dans l'immunité naturelle et acquise. Or, la phagocytose, étudiée comme phénomène général dans la pathologie comparée, est un processus très compliqué. Son analyse, comme celle de tous les phénomènes biologiques, soulève beaucoup de difficultés, parce qu'on a affaire ici à trois facteurs variables dans leurs qualités : le phagocyte, la bactérie (resp. un autre corps étranger) et le milieu, qui réagissent l'un sur l'autre.

Depuis que Wright c. s. a démontré que le sérum frais prépare les bactéries à être phagocytées, grâce à des substances spécifiques auxquelles il a donné le nom d'« opsonines », les phénomènes de la phagocytose semblent être étudiés d'une façon encore plus précise qu'auparavant.

Je sais qu'il y a des bactériologistes qui doutent de l'existence réelle des opsonines. Ceux-ci pensent qu'il n'est pas nécessaire d'attribuer le pouvoir dit opsonique à des substances nouvelles et inconnues jusqu'ici, mais que les prétendues opsonines sont identiques aux sensibilisatrices, ou au moins qu'elles représentent une qualité spéciale de ces substances.

Je ne veux pas ici faire de théorie, mais me borner à publier quelques faits ; je veux seulement montrer qu'on peut très bien travailler avec la conception du pouvoir opsonique, que l'introduction des opsonines dans l'étude de l'immunité a donné jusqu'ici de bons résultats, et éclairci nos conceptions sur le processus de la phagocytose. C'est pourquoi, dans les lignes suivantes, j'emploierai le terme d'opsonines.

Etant donnée l'avidité des phagocytes de la grenouille pour les bacilles du charbon, je me suis posé la question suivante : y a-t-il une substance intervenant dans l'action des globules blancs sur les bactéries, et, dans ce cas, cette substance est-elle contenue dans le sérum ?

Tout d'abord je remarquai qu'on peut priver les leucocytes

de grenouille de leur pouvoir phagocytaire par le lavage par centrifugation, soit avec l'eau physiologique ordinaire, soit avec l'humeur aqueuse de bœuf.

Les expériences sont faites *in vitro*, au moyen de gouttes pendantes. J'ai rencontré assez de difficultés pour avoir une quantité de globules blancs suffisante pour ces expériences. Dans la méthode de Wright, on opère sur des globules blancs contenus dans le sang. Je me suis servi d'exsudats de façon à éviter la présence des globules rouges et à me procurer un grand nombre de globules blancs.

Le suc du sac lymphatique ne renfermant pas assez de leucocytes, j'ai obtenu un exsudat riche et ne coagulant pas trop vite, en injectant, dans la cavité péritonéale de mes grenouilles, quelques centimètres cubes d'un mélange de parties égales de bouillon et d'eau physiologique. Après trois ou quatre heures, on retire l'exsudat au moyen d'une pipette à pointe très fine, qui ne fait presque pas de plaie à la paroi abdominale <sup>1</sup>, et on transporte le liquide dans un tube. Après séparation du caillot, l'exsudat est centrifugé, le liquide est retiré; on ajoute de l'eau physiologique au dépôt, on mélange et on centrifuge à nouveau. On peut répéter plusieurs fois de suite les mêmes opérations. Un tel lavage, pratiqué deux fois pendant cinq minutes dans la centrifuge électrique, prive les leucocytes de grenouille de leur pouvoir phagocytaire envers les bactéries du charbon. La goutte pendante était composée d'une anse d'une émulsion de bactériidies dans du bouillon ou dans de l'eau physiologique, et d'une goutte d'une émulsion de leucocytes, avec ou sans addition d'une petite goutte de sérum. Dans toutes les expériences, j'ai préparé, pour le contrôle, une goutte pendante avec les bactéries et les mêmes leucocytes *non* lavés.

Pour me rendre compte de l'influence du lavage sur les leucocytes d'un autre animal, je me suis servi des globules blancs contenus dans l'exsudat abdominal provoqué chez les cobayes par l'injection de certains produits stérilisés. Conformément aux résultats de M. Löhlein <sup>2</sup>, j'ai trouvé que le lavage même cinq fois répété ne diminue pas sensiblement la voracité

1. Ainsi il n'est pas nécessaire de tuer la grenouille, et on peut se servir plusieurs fois des mêmes animaux, après un intervalle de quelques jours.

2. Ces *Annales*, 1905, n° 10, page 647.



des phagocytes envers les bactéries charbonneuses. Je reviendrai plus loin sur cette différence et cette contradiction apparente entre les qualités des leucocytes lavés de grenouille et de cobaye.

Quand on ajoute au mélange indifférent (leucocytes de grenouille lavés, bactéries, eau physiologique) une petite quantité de sérum de grenouille frais, les phagocytes sont réactivés, et commencent tout de suite à englober les bactéries. Ces dernières, uniformément répandues dans les préparations avec l'eau physiologique, sont agglutinées aussitôt par le sérum frais. A côté des phagocytes isolés en train d'englober des bactéries ou des filaments charbonneux, on voit des amas de bacilles au milieu desquels se trouvent des globules blancs en train d'englober des microbes. Ces préparations sont tout à fait semblables à celles qu'on obtient avec les leucocytes non lavés.

L'addition du sérum frais au mélange indifférent provoque donc deux réactions distinctes : la phagocytose et l'agglutination. En langue bactériologique, ceci veut dire qu'il y a dans le sérum frais de grenouille une opsonine et une agglutinine pour les bactéries du charbon.

Il reste maintenant à prouver expérimentalement que ces deux substances sont vraiment différentes l'une de l'autre, et à chercher si cette opsonine peut se fixer sur les bactéries, c'est-à-dire peut vraiment préparer les bactéries à être englobées et former ainsi le trait d'union entre les microbes et les phagocytes.

Me guidant sur nos connaissances actuelles sur la thermolabilité de ce genre de substances, j'ai chauffé à 55°-60° C., environ pendant une demi-heure, le sérum frais, et j'ai trouvé qu'il était alors privé de son pouvoir opsonique. En effet, l'addition d'un tel sérum chauffé au mélange indifférent ne provoque pas la phagocytose ou détermine tout au plus une phagocytose très faible. Ceci dépend du mode de chauffage : un court chauffage à une haute température a le même effet qu'un chauffage plus prolongé à une température plus basse, ce qui prouve qu'on a affaire à une destruction quantitative de la substance en question.

Le chauffage à 55°-60° ne prive pas le sérum de son pouvoir

agglutinatif : on trouve dans les gouttes pendantes les amas de bactériidies, mais les phagocytes y restent immobiles ou émettent tout au plus quelques pseudopodes, sans pourtant s'emparer d'un seul microbe.

L'agglutinine à son tour n'est détruite qu'à la température de 70°. Un sérum chauffé pendant une demi-heure à 70° est tout à fait indifférent et pour les microbes et pour les leucocytes ; quant à son action biologique, il se comporte comme de l'eau physiologique.

En observant le rôle du sérum dans la phagocytose, et en attribuant ce rôle à une substance spéciale qui établit une relation entre le phagocyte et le microbe, on doit se demander si cette opsonine porte son action sur tous les deux également, ou bien si elle a une affinité spéciale pour un des deux. Prépare-t-elle le microbe ou bien stimule-t-elle le phagocyte ? Pour étudier cette question, il est nécessaire de contrôler l'action du sérum sur chacun des facteurs séparément. Il va sans dire qu'en traitant les leucocytes, après le lavage, avec du sérum frais, on leur restitue justement ce que le lavage leur a ôté. Bien que, dans le phénomène de la phagocytose, le phagocyte joue à nos yeux le rôle actif, il est évident que le corps étranger par sa présence, c'est-à-dire par ses qualités physiques ou chimiques, doit attirer le phagocyte : il est le *primum movens* de tout le processus. Il était donc à prévoir qu'on pourrait, par le traitement au sérum frais, préparer le microbe pour l'englobement, tandis que, sans ce traitement, il reste indifférent pour le phagocyte lavé.

Pour cela, j'ai bien mélangé et puis centrifugé une émulsion de bactériidies avec du sérum frais ; après cela, j'ai retiré le liquide à l'aide d'une pipette, puis ajouté au dépôt de l'eau physiologique, mélangé et centrifugé à nouveau. Après l'enlèvement du liquide, les microbes, portés dans de l'eau physiologique avec des leucocytes bien lavés, devenaient une proie facile pour les phagocytes. Donc, par ce procédé, la fixation de l'opsonine sur le microbe est démontrée.

J'ai fait des expériences comparatives, dans lesquelles j'ai remplacé les bacilles virulents du charbon par des bacilles du premier vaccin, des bacilles morts (une culture en bouillon portée à 100°) et par des grains de carmin. Ces trois sortes de

corpuscules sont englobés plus ou moins vite par les phagocytes non lavés, mais la fixation de l'opsonine se fait sur le premier vaccin et même sur les bacilles morts, mais non sur la poudre de carmin. Je donne ici un extrait des protocoles de mes expériences, que M. le docteur Levaditi a bien voulu contrôler et vérifier :

I. Leucocytes non lavés. Sérum. Bactéridies.	Agglutination. Phagocytose forte.
II. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Eau physiologique.	Bactéries uniformément répandues, pas d'agglutination, phagocytose nulle, leucocytes sans prolonge- ments protoplasmiques.
III. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum frais.	Agglutination forte. Tous les leucocytes présents dans la préparation ont englobé des bac- téries.
IV. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum chauffé à 58° C.	Agglutination. Leucocytes ronds, pas de phagocy- tose.
V. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum chauffé à 70°.	Pas d'agglutination. Phagocytose nulle.
La séparation de l'agglutinine et de l'opsonine par la tempé- ture est frappante (IV et V).	
VI. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies. Sérum frais, mélangé et centri- fugé d'avance avec des bacté- ridies.	Agglutination. Phagocytose assez forte.
VII. Leucocytes deux fois lavés. Bactéridies mélangées et centri- fugées d'avance avec le sérum frais de VI, et lavées après cela une fois avec de l'eau physio- logique. Eau physiologique.	Gros amas de bactéridies. Agglutination forte. Dans ces amas des leucocytes avec des prolongements amoéboides, phagocytose manifeste.

Des expériences VI et VII, il résulte que l'agglutinine aussi bien que l'opsonine se sont fixées sur les bactéries, et que la fixation a été partielle. La fixation étant quantitative, la quantité de bactéries n'était pas suffisante pour fixer toute la

substance du sérum de VI, de sorte qu'il en restait assez pour qu'il se produisît aussi dans VI agglutination et phagocytose. La différence entre II et VII est frappante.

On pourrait encore faire l'objection que le leucocyte perd sa vitalité par des lésions produites par les lavages répétés, et que c'est pour cela qu'il ne peut pas englober les bactéries (II). La réponse se trouve dans III, où les leucocytes ont subi le même traitement et sont ranimés par l'opsonine du sérum frais dont le lavage les avait privés, et deviennent aussi vifs que les leucocytes frais.

Quant au pouvoir opsonique d'autres humeurs du corps, j'ai étudié encore la lymphe du sac lymphatique et l'exsudat péritonéal. Je les ai privés des globules blancs et d'autres corpuscules par la centrifugation, et j'ai vu qu'ils peuvent ranimer les leucocytes lavés tout comme le sérum frais. Il est intéressant de constater que ces trois humeurs, le sérum, la lymphe et l'exsudat péritonéal, qui contiennent des globules blancs, présentent un pouvoir opsonique plus ou moins fort. Néanmoins, ce fait, à mon avis, ne nous donne pas encore le droit d'en conclure que ce sont toujours les leucocytes seuls qui produisent l'opsonine. Car les leucocytes de grenouille, lavés et mis dans un milieu indifférent (eau physiologique) ne semblent pas posséder le pouvoir de produire d'eux-mêmes l'opsonine, car on peut attendre autant qu'on veut : malgré la présence de bactéries, la phagocytose ne se produit pas.

Je veux revenir ici sur cette contradiction apparente que les leucocytes de cobaye, — animal très sensible au charbon, — après cinq lavages successifs et plus, englobent facilement les bactériidies, même à la température de la chambre, tandis que les leucocytes de grenouille — animal réfractaire au charbon — n'englobent pas les bactériidies après un lavage deux fois répété. J'ai démontré déjà que chez les leucocytes de grenouille il n'y a pas d'affaiblissement par le lavage ; de l'autre côté, on a le droit de supposer qu'après lavage répété cinq fois et plus, les leucocytes de cobaye sont bien privés de l'opsonine qui pourrait être attachée à leur surface. Si on voulait attribuer aux leucocytes le pouvoir de produire l'opsonine, on pourrait dire que les leucocytes lavés de cobaye produisent cette substance d'eux-mêmes (« phagocytose spontanée »), tandis



que dans les préparations de leucocytes lavés de grenouille, le sérum ajouté exerce sur les leucocytes l'excitation nécessaire pour produire l'opsonine, ou bien que cette substance (d'une provenance inconnue) est contenue dans le sérum ajouté.

J'ai trouvé d'ailleurs que le sérum de grenouille est toxique pour les globules blancs du cobaye et que le sérum du cobaye arrête les mouvements des leucocytes de la grenouille.

Quand on veut se représenter la constitution et le mode d'action de l'opsonine en général, il me semble — aussi d'après mes propres recherches — qu'on peut très bien se servir du langage figuré de Ehrlich, et dire : L'opsonine est une substance à deux groupes ; l'un, le groupe *bactériophile*, doué d'une affinité spécifique, se fixe sur le microbe, et, par cette fixation même, l'autre, le groupe *phagocytophile*, est mis en action : le phagocyte est attiré et peut faire son œuvre.

En dehors de toute théorie, les résultats de mes expériences me donnent le droit de formuler les conclusions suivantes :

1° Il y a dans le sérum de grenouille :

a) Une substance qui prépare les bactéries du charbon pour la phagocytose par les phagocytes de grenouille ;

b) Une substance qui fait agglutiner les bactéries du charbon ;

2° La substance *a* (l'opsonine) est détruite par le chauffage à 56°.

L'agglutinine *b* ne se détruit qu'à 70° ;

3° L'opsonine agit sur les bactéries. Elle se fixe également sur les bacilles virulents, sur les bacilles du premier vaccin et les bacilles morts, mais pas sur un corps indifférent comme la poudre de carmin ;

4° La lymphe du sac lymphatique et l'exsudat péritonéal ont un pouvoir opsonique comme le sérum ;

5° On peut priver les phagocytes de grenouille de leur pouvoir phagocytaire en les lavant deux fois pendant cinq minutes, soit avec de l'eau physiologique ordinaire, soit avec l'humeur aqueuse de bœuf. Ils peuvent être ranimés par le sérum frais de grenouille, tandis que le sérum chauffé les laisse indifférents,

*Nota.* De nouvelles recherches entreprises par moi au laboratoire de M. Bordet confirment les constatations de MM. Levaditi et Inmann et Neufeld et Hüne, concernant l'identité de l'opsonine normale et du complément.

En terminant, j'ai le devoir bien agréable d'exprimer ma vive reconnaissance à M. le professeur Metchnikoff pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, et à M. le docteur Levaditi pour ses conseils techniques fort appréciés.

Leyde, 1906.

---

# INFLUENCE DU FERMENT LACTIQUE SUR LA FLORE DES EXCRÉMENTS DES SOURIS

PAR J. BELONOVSKY

---

## I

Les bactéries qui ont servi à notre étude ont été obtenues pour la première fois par MM. Cohendy et Michelson, au laboratoire de M. Metchnikoff, et M. Grigoroff, au laboratoire de M. Massol à Genève; elles ont été extraites d'une sorte spéciale de lait caillé en usage en Bulgarie et en Roumanie et connue sous le nom de « Yougourt » <sup>1</sup>.

Ce qui les distingue des autres bactéries lactiques, c'est la grande quantité d'acide lactique qu'elles préparent aux dépens du sucre de lait : tandis que les microbes ordinaires ne fournissent pas plus de 1 0/0 d'acide, les bactéries bulgares en donnent jusqu'à 3,23 0/0 <sup>2</sup>, ce qui rend très aigre le lait coagulé sous leur action. De plus, ces bactéries ont peu d'action sur la caséine et les matières grasses du lait et produisent une proportion insignifiante de substances secondaires (acide sucrique, acide acétique, etc.) <sup>3</sup>.

Par leurs caractères extérieurs et par leur distribution dans les cultures, ces bactéries rappellent de près le vibron septique de Pasteur : mêmes bâtonnets minces et nettement coupés, se réunissant en filament de longueur moyenne. Sous leur action, le lait se coagule d'une façon régulière, sans exsudation de sérum. Si l'on ajoute au lait un peu de teinture de tournesol, ces bactéries le rendent d'abord uniformément rosé; puis, lorsque la coagulation est achevée, sa couche supérieure, d'un demi-centimètre d'épaisseur à peu près, devient d'un rose *éclatant*, le reste de la masse étant d'un blanc jaunâtre. Avec le temps, la couche rose s'étend de plus en plus vers le bas; au bout de 1 mois 1/2 à 2 mois, le lait tout entier prend cette teinte. Si

1. La culture dont nous nous sommes servis nous était fournie directement par le Dr Cohendy.

2. M. COHENOT, Description d'un ferment lactique, etc..., *Comptes rendus de la Société de Biologie*.

3. MM. BERTRAND et WEISWEILLER, *Ann. Inst. Pasteur*, 1906, n° 11.

on l'expose à une lumière très vive, il blanchit de nouveau, de bas en haut.

Les milieux dépourvus de sucre ne permettent pas le développement de ces bactéries. Un bouillon de sucre à 2 0/0 ne peut donner lieu qu'à un développement très faible; le bouillon reste liquide et c'est seulement au fond de l'éprouvette qu'on voit se former un léger précipité. Les bactéries développées en bouillon sont un peu plus volumineuses, légèrement gonflées et moins nettement délimitées que dans le lait. Semées sur de l'agar sucré, elles se développent très mal : les colonies apparaissent les 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> jour et ne mesurent pas plus d'un millimètre de diamètre; elles présentent un aspect très caractéristique : des lignes sinueuses, serpentineuses rayonnant autour d'un centre.

Ces bactéries se colorent très facilement par toutes les couleurs d'aniline, ainsi qu'en se servant de la méthode de Gram; quelques individus, probablement morts, restent incolores. Le lait dans lequel on a semé une culture se coagule, à la température de 35 à 37°, au bout de 16 à 18 heures. Cette différence dans le temps de coagulation tient à deux causes : à l'état plus ou moins frais de la culture qui a servi à l'ensemencement et à la répétition plus ou moins fréquente des transplantations. Une culture vieille ou ayant été trop rarement transplantée coagule plus lentement. Si l'on a soin de transplanter les cultures tous les 3-4 jours, la coagulation complète a lieu au bout de 24 heures.

La multiplication des bactéries s'arrête bientôt; après la coagulation, elles perdent peu à peu leur vitalité; ensemencées à nouveau elles ne peuvent plus provoquer la coagulation que dans un délai plus long. Nos observations ont montré qu'à la température du laboratoire elles périssent complètement au bout de 19 jours. Le 18<sup>e</sup> jour il leur faut 6 jours pour faire coaguler le lait. Les bactéries chauffées à 55° pendant 2 heures ne coagulent le lait que très lentement; elles sont tuées par un chauffage de 4 heures à la même température.

## II

Le professeur Metchnikoff nous a proposé d'étudier l'influence de ces bactéries sur la flore intestinale des animaux en nous conseillant de prendre des souris comme objet de nos



observations, ces animaux devenant adultes, se reproduisant et vieillissant en un laps de temps très court.

En examinant sous le microscope les excréments normales des souris, on voit le champ visuel occupé principalement par des cocco-bacilles et des cocci de différentes dimensions; par place on trouve des microbes, probablement semblables, étroitement serrés les uns contre les autres, comme cela se voit dans les colonies sur agar-agar. Les formes bacillaires ne tiennent là qu'une place peu importante; parmi elles on trouve des bacilles fins, nettement coupés, quelquefois légèrement recourbés. Puis, en petit nombre également, d'autres bâtonnets de très grandes dimensions, gros et longs (près de  $25\ \mu$ ), tantôt tout à fait rectilignes, tantôt légèrement recourbés. Leur épaisseur est parfois inégale, ce qui leur donne un aspect irrégulier; certaines sont moins grosses, aux extrémités pointues, généralement un peu recourbées, de dimensions variables depuis les plus petites jusqu'aux plus grosses, qui peuvent atteindre les proportions des grandes bactéries que je viens de décrire; elles sont quelquefois très nombreuses.

Cet aspect, qui peut varier dans les détails, est quelquefois modifié par la présence d'autres éléments : des levures de différentes grandeurs, grosses et ovales (se colorant très vivement), des bactéries se colorant d'une façon bipolaire comme les bacilles de la peste, d'autres bactéries portant des spores à l'extrémité ou plus près du milieu. Souvent enfin, on trouve, surtout chez les souris âgées, de courts spirochètes présentant 2 ou 3 spores.

Un peu différente est la flore des jeunes souris pendant les 2 à 3 semaines où elles se nourrissent du lait maternel. Elle consiste principalement en bacilles minces et égaux, quelquefois légèrement recourbés. Ce sont eux qui dominent pendant les 3 ou 4 premiers jours de la vie. Plus tard, beaucoup d'autres microbes apparaissent, mais les bacilles n'en dominent pas moins. Lorsque les petites souris commencent à chercher elles-mêmes leur nourriture, cette flore fait rapidement et brusquement place à celle décrite plus haut.

En colorant par la méthode de Gram les excréments des souris adultes, on voit qu'une petite portion seulement des bactéries prennent la coloration : ce sont les gros bacilles

décrits plus haut, les bacilles fins aux extrémités pointues, les bactéries sporifères, une partie des cocci et des cocco-bacilles et une partie des levures. Au contraire, dans les excréments de souris nourries au sein, la plupart des bactéries se laissent colorer.

### III

Voici comment nous avons organisé nos expériences. Dans des récipients en verre on a placé deux par deux (un mâle et une femelle), des souris qu'on a soumis à un régime spécial. Les expériences ayant duré plus de 10 mois, les animaux se sont reproduits plusieurs fois, leurs petits ont grandi et, à leur tour, ont donné une progéniture. De cette façon on a pu les observer de leur naissance jusqu'à l'âge adulte.

Dans d'autres récipients, il y avait de vieilles souris, âgées de 3 à 4 ans, que nous devions à l'obligeance de M. le docteur Borrel. Comme nourriture, les unes recevaient des graines de froment stérilisées par la chaleur à sec et additionnées d'une culture de 1 à 2 jours du microbe bulgare; pour les autres, on ajoutait aux graines stérilisées les substances suivantes : 1° du lait stérilisé; 2° de l'eau stérilisée; 3° du lait coagulé par l'action de l'acide lactique, en quantité égale à celle qui se trouvait dans la culture de la bactérie bulgare<sup>1</sup>; 4° des cultures de bactérie bulgare tuée par l'action d'une température de 56° pendant 4 heures; 5° une culture de 2 jours sur bouillon de *Bac. prodigiosus*; 6° une culture de 2 jours de *Bac. pyocyaneus*.

Les conditions d'existence de nos souris étaient autant que possible identiques : les récipients étaient à peu près de même grandeur, les souris placées en nombre à peu près égal, la quantité de nourriture et des substances ajoutées, la même.

### IV

12 jours après le commencement des expériences, nous avons pu constater une différence notable entre les excréments des souris ayant absorbé le ferment et les animaux de contrôle soumis au régime ordinaire. Tandis qu'après avoir semé dans du bouillon les excréments de ces derniers, on obtenait, au bout

1. La quantité moyenne était de 1, 6 0/0. Dans la suite on a remplacé le lait coagulé par l'acide lactique, par la culture stérilisée du bacille bulgare.

de 23 heures, un liquide très trouble, d'odeur forte et désagréable, chez les premiers l'odeur était moindre et le bouillon moins trouble. Sur du bouillon sucré on constatait un dégagement de gaz moindre. En les semant sur de l'agar sucré, en profondeur, on trouvait un nombre de bactéries moindre et un dégagement de bulles de gaz moins intense. Vers le 20<sup>e</sup> jour après l'ensemencement, suivant cette méthode, le dégagement de gaz s'arrêtait complètement. Au bout de 33 jours on a constaté que les cultures faites sur du bouillon, à l'aide d'une émulsion des excréments des souris ayant absorbé le ferment, restaient limpides et ne germaient que 2 ou 4 jours plus tard. Au contraire, dans les expériences de contrôle, les cultures présentaient un trouble très abondant déjà au bout de 24 heures.

Les phénomènes sont restés à peu près les mêmes par la suite. Il arrivait cependant que, sans cause apparente, le dégagement de gaz reprenait et les cultures commençaient à ressembler davantage à celles de contrôle, bien que, même dans ces cas, il y ait toujours eu une différence notable entre les souris de contrôle et les souris ayant absorbé du ferment.

L'examen microscopique des excréments de ces dernières révèle une augmentation considérable du nombre de bactéries se colorant par la méthode de Gram : tandis que dans les excréments normaux la coloration ne porte que sur 1/10 de toutes les bactéries, dans ceux des souris ayant reçu du ferment, les 8/10 des bactéries prennent la coloration. On observe également une diminution des cocci et des cocco-bacilles et une prédominance des formes bacillaires.

Les mêmes modifications peuvent être constatées chez les jeunes souris allaitées par leur mère : elles sont même plus nettes et se manifestent plutôt. Les bactéries du ferment qui se trouvent dans l'intestin de ces souris proviennent probablement de la cavité buccale ou des mamelles de la mère<sup>1</sup> ; peut-être aussi le lait de la mère subit-il quelques modifications. Jusqu'au 4<sup>e</sup> jour après la naissance, aucune différence n'existe entre la flore des excréments des petits dont les mères ont absorbé le ferment et les petits animaux de contrôle. Mais à partir de ce moment, où, dans les conditions normales, le nombre

1. Une observation dans ce sens a été faite par le Dr Obrastzoff. *Contribution à la question de l'extension des bactéries acidophiles*. Thèse, St-Petersbourg; 1904, p. 131.)

de bactéries commence à augmenter, une différence très nette s'établit : chez les petits des animaux à ferment ce nombre, au lieu d'augmenter, diminue au contraire ; il reste peu considérable jusqu'au moment où les jeunes souris commencent à se nourrir de graines, après quoi il augmente brusquement, avec prédominance de formes bacillaires prenant la coloration de Gram.

Chez les souris âgées, toutes ces modifications dans la flore sont moins nettes et s'établissent beaucoup plus lentement.

Avant d'aborder l'étude détaillée de ces modifications dans la flore des excréments, décrivons en quelques mots sa composition normale, autant que nous avons pu l'établir à l'aide de cultures aérobies et anaérobies.

La plupart des colonies développées dans les conditions décrites plus haut appartiennent aux bacilles intestinaux typiques (*B. coli*) ; puis vient un bacille aérobie que nous avons isolé, et qui fournit, dans les cultures, des colonies grises devenant ensuite jaune pâle. C'est une bactérie qui liquéfie la gélatine, ne coagule pas le lait et ne se colore pas par la méthode de Gram. Vient ensuite le *Bac. lactis aerogenes*, quelques cocci et cocco-bacilles, puis des bactéries anaérobies facultatives. Ces dernières correspondent probablement aux bactéries acidophiles de Moro et au *B. bifidus* de Tissier. En tout, nous avons isolé dans les excréments des souris normales 15 espèces différentes de bactéries. Nous n'avons pu isoler ni les longues et grosses bactéries, ni les bactéries sporifères, ni celles à extrémités pointues.

Dans les excréments des souris ayant absorbé le ferment pendant un temps plus ou moins long, deux microbes prédominent : 1° un bacille, qui, après un séjour de 3 à 4 jours dans le thermostat, se révèle comme un anaérobie facultatif et forme de petites colonies (de 1 à 2 millimètres de diamètre) tantôt finement granulées, tantôt en forme de lentilles entourées d'une auréole de petites granulations. Ces bactéries se colorent par la méthode de Gram ; lorsqu'on les sème par piqûre, elles poussent d'abord comme anaérobies, ensuite arrivent à la surface ; dans un bouillon de sucre elles se développent faiblement, sous forme d'un léger trouble au fond de l'éprouvette ; elles ne coagulent pas le lait, mais modifient sa réaction. Elles sont acido-résis



tantes; 2° un microbe qui, 24 heures après l'ensemencement, forme des colonies punctiformes, amorphes par son aspect extérieur, il rappelle le *B. coli*, ne prend pas la coloration de Gram et ne provoque par de dégagement de gaz dans les milieux sucrés. On rencontre également le *B. coli*, mais il est peu nombreux; dans certaines cultures il nous a même été impossible de le trouver. En tout, les excréments des souris à ferment nous ont permis d'isoler 9 espèces différentes de microbes.

Quant aux bactéries que nous n'avons pas réussi à isoler. on constate, sous le microscope, que, sans disparaître complètement, elles deviennent cependant moins nombreuses. Les bactéries sporifères et les spirochètes disparaissent.

Il faut également noter une certaine augmentation de cellules ovales des levures se colorant par la méthode de Gram et fortement acido-résistantes.

*Ainsi, nous avons pu constater, dans la flore intestinale des souris ayant absorbé du ferment, des modifications très considérables.*

## V

Quelles étaient, maintenant, les modifications subies par la flore intestinale des souris pour lesquelles on mélangeait, aux graines qui leur servaient de nourriture, diverses autres substances?

Chez les souris ayant reçu pendant 7 mois une nourriture stérile (graines et eau), on n'a pu constater aucun changement notable ni dans la composition de la flore excrémentitielle, ni dans le nombre de ses microbes. De même, aucune modification n'est survenue chez les souris auxquelles on donnait du lait stérilisé. Nos recherches contredisent sous ce rapport celles de Zuckdorff<sup>1</sup> et confirment pleinement celles de Hammerl<sup>2</sup> et de Ballner<sup>3</sup>.

La flore des souris ayant absorbé, avec leur nourriture, des *Bac. prodigiosus* n'a subi non plus aucune modification. Chez celles ayant reçu du *Bac. pyocyaneus*, on a constaté, pendant 5, 6 semaines, une augmentation du nombre de microbes, surtout de ceux provoquant des dégagements de gaz: dans la suite,

1. *Arch. f. Hygiene*, 1886.

2. *Zeitschr f. Biol.*, 1897, Bd. 17 (35), p. 353.

3. *Ibid.*, 1904, Bd. 45, p. 399.

cet effet s'effaçait et le retour à l'état normal s'effectuait. La flore des souris ayant absorbé du lait coagulé par l'acide lactique pris en quantité notée plus haut, ne montrait non plus aucune différence essentielle : au dixième mois de ce régime, on n'a pu constater qu'une légère diminution dans le nombre des bactéries donnant naissance à des dégagements gazeux.

Une différence très nette, au contraire, cédant à peine à celle qu'on a pu voir chez les souris à ferment, était constatée dans la flore des souris ayant reçu des cultures de la bactérie bulgare, chauffées, pendant 4 heures, à 56°. Même disparition rapide de dégagements de gaz, même diminution du nombre total des microbes, même augmentation de celui des bactéries se colorant par la méthode de Gram.

Le tableau suivant montre la diminution du nombre de bactéries sous l'influence de ces divers régimes ; c'est le résultat des calculs du nombre de microbes, faits lors d'une des expériences. Le calcul était fait en comptant le nombre des colonies dans les cultures anaérobies sur agar agar.

TABLEAU I

NOMBRE DE COLONIES DANS 1 MILLIGRAMME D'EXCRÉMENTS

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Souris de contrôle.	Souris ayant absorbé du ferment bulgare.	Vieilles souris ayant absorbé du ferment bulgare.	Souris ayant absorbé de l'acide lactique.	Souris ayant absorbé du ferment chauffé à 56°.	Souris ayant reçu une nourriture stérilisée.	Souris ayant reçu du lait stérilisé.	Souris ayant reçu des <i>B. pyocyaneus</i> .	Souris ayant absorbé du <i>B. prodigiosus</i> .
1.681.000	348.000	829.000	1.707.000	803.500	1.630.000	1.590.000	1.820.000	1.624.000

A l'effet de déterminer le degré de virulence des excréments des souris soumises à ces divers régimes, nous avons injecté 1/2 c. c. d'une émulsion de ces excréments sur bouillon dans la cavité intrapéritonéale de toute une série de souris normales. Voici les résultats que nous avons obtenus : les souris qui ont reçu les excréments des animaux de contrôle ont succombé, l'une au bout de moins de 14 heures, l'autre au bout de 18 heu-

res ; celles à qui l'on a injecté les excréments des groupes VI et VII (voir table I) semblaient avoir été très malades, mais se sont rétablies ; les autres n'ont manifesté aucun symptôme de maladie.

Dans la deuxième série d'expériences nous avons comparé la faculté des différents excréments de provoquer la putréfaction de la viande. Nous avons, dans ce but, découpé, de la façon la plus aseptique possible, des fragments de muscles chez un lapin fraîchement tué, et les avons transportés dans les éprouvettes ; dans chacune de ces éprouvettes on a ajouté 1/4 de c. c. de l'émulsion mentionnée plus haut ; puis les éprouvettes ont été soudées et transportées, pour 3 jours dans le thermostat. Passé ce délai, on plongeait dans chacune un morceau de papier imbibé d'une solution d'acétate de plomb ; son noircissement indiquait le degré de putréfaction. Le résultat fut très net et conforme aux autres indications : c'étaient les groupes II et V qui donnèrent le moindre noircissement, le plus considérable fut constaté chez les souris de contrôle, le milieu était tenu par les groupes IV et VI. Dans les groupes II et V la viande avait à peine changé d'aspect ; dans les autres, elle avait pris une teinte vert pâle.

Le tableau suivant montre les changements survenus dans le poids des souris.

TABLEAU II (Voir tableau I).

GROUPES	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X <sup>1</sup>
Avant le commencement des expériences.	19	18	20	26	25	23	25	18	20	26
Au bout de 13 jours.	19	18	20 1/2	—	—	—	—	18	20	—
— 30 —	20 1/2	20	22	27	—	23 1/2	25	21	20	26
— 45 —	18	20 1/2	27	23	—	24	24 1/2	22	18 1/2	28
— 60 —	19	24	27	22 1/2	—	23	23	19	19	27
— 80 —	20	21	24	21 1/2	25	21 1/2	24	22 1/2	20	28
— 100 —	15 1/2	21	22	22	23	22	23	18	21	26
— 120 —	14 1/2	21	21	22	25	21	21	20	22	28
— 150 —	—	22	25	22	26	22	23	19 1/2	22	28
— 240 —	—	24	—	22	25	21	21	18	24	28
Augmentation... ..	—	6	5	—	0	—	—	0	4	2
Diminution.....	4 1/2	—	—	4	0	2	4	0	—	—

1. Vieilles souris de contrôle.

1. Résultats moyens.

TABLEAU III (*Poids des jeunes animaux.*)

NÉS DE GROUPES	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Au bout de 13 jours.	7	6	9	6	»	N'ont pas donné de progéniture.	»	5	4	N'ont pas donné de progéniture.
— 30 —	9	8 2/3	12	8 1/2	»		7	7 1/4	9	
— 45 —	11	12 2/3	»	»	9		7 2/3	11	11 2/3	
— 60 —	14 1/2	15 1/3	17	14 1/2	12		»	13	14	
— 80 —	14 1/2	16 1/3	17	15 5/6	»		»	15 1/4	»	
— 100 —	14	19	18	16	15		12	15 1/6	18	
— 120 —	14	19	18	17	»		»	16	18	
— 150 —	15	20	18	»	»		»	15	18	
— 240 —	16	23 1/2	»	15	16		»	18	18	

Il en résulte que les souris ayant absorbé du ferment sont celles qui se sont le mieux développées.

## VI

La comparaison de la flore des souris ayant absorbé du ferment, avec celle des souris ayant reçu de l'acide lactique, montre clairement que l'action des cultures du microbe bulgare sur la désinfection de l'intestin tient non seulement à l'acide lactique, mais encore à un autre facteur, dépendant probablement de la présence des bactéries elles-mêmes et de leurs produits.

Pour trancher cette question, nous avons institué *in vitro* deux séries d'expériences : 1° détermination de l'action du microbe bulgare vivant en symbiose avec d'autres microbes intestinaux, et 2° détermination de l'influence de ses produits sur les autres microbes.

Dans la première série, les excréments et les microbes isolés qui entrent dans leur composition (principalement *Bac. coli*) étaient semés en même temps que le microbe bulgare dans du bouillon sucré et dans du lait ; pendant 15 jours on a observé constamment leurs rapports réciproques.

Dans l'ensemencement sur bouillon sucré, le microbe du ferment ne manifestait, les 3 ou 4 premiers jours, qu'une vitalité faible ; il n'apparaissait qu'en petit nombre au milieu des autres et n'était par conséquent pas toujours visible dans le champ du microscope. A partir du 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> jour le nombre des bactéries du ferment augmente un peu et, bien qu'il soit loin de prédominer sur les autres, ne diminue plus.



Dans l'ensemencement d'un mélange de microbes sur du lait, on voit, dès le 3<sup>e</sup> ou le 4<sup>e</sup> jour, le microbe du ferment prédominer sur les autres; à la fin de la première semaine la plupart de ces derniers périssent; seules restent, généralement, les bacilles acido-résistants.

On peut expliquer une telle prédominance en supposant que le lait offre à la multiplication des bactéries du ferment un milieu plus favorable que le bouillon sucré.

Pour étudier l'influence des produits de ce microbe, on ajoutait dans les éprouvettes ensemencées soit avec excréments, soit avec des microbes isolés, 1<sup>o</sup> de l'acide lactique du ferment filtré et 2<sup>o</sup> le même acide filtré et stérilisé, dans lequel les produits bactériens probablement anihilés, et 3<sup>o</sup> de l'acide lactique en solution équivalente.

Ces expériences ont montré que toutes ces substances possèdent des propriétés bactéricides bien marquées. En en ajoutant, depuis 1 c. c. à 10 c. c. de culture, on voit nettement que l'action bactéricide du ferment filtré et non stérilisé est beaucoup plus forte que celle de la solution équivalente de l'acide lactique et aussi que celle du ferment stérilisé.

Peut-être est-ce à l'aide de cette action (qui rappelle celle d'autotoxines de Conradi et de Kurpjuweit<sup>1</sup>) qu'on peut expliquer pourquoi la désinfection de l'intestin est plus considérable chez les souris ayant reçu le ferment — vivant ou privé de la possibilité de se reproduire — que chez celles ayant absorbé une quantité équivalente d'acide lactique.

## VII

Au bout de combien de temps les microbes du ferment s'acclimatent-ils dans l'intestin?

Lorsqu'on examine les excréments sous le microscope, on ne constate aucune prédominance du ferment sur les autres bactéries. Mais même dans les cas où on ne le distingue pas du tout, on peut facilement révéler sa présence en faisant des ensemencements d'excréments sur du lait. Les expériences citées plus haut nous ont montré qu'en mélangeant le microbe du ferment

1. *Munch. med. Woch.*, 1905. N<sup>o</sup> 37, 45, 46.

aux excréments semés sur du lait, on le voit prendre le dessus sur les autres microbes. Le même résultat est obtenu si l'on ensemence sur du lait des excréments qui le contiennent. La moindre addition de ce microbe change en même temps l'aspect microscopique de la coagulation, en le rapprochant de ce qui s'observe quand le lait se coagule sous l'action de la culture pure du ferment, c'est-à-dire la formation d'un *coagulum* plus régulier, avec la couche rosée caractéristique au-dessus de la masse blanche.

Nous avons ainsi pu constater la présence du ferment chez les jeunes souris dès le 4<sup>e</sup> jour après la naissance.

Chez les souris adultes, le ferment s'acclimate plus lentement, pas avant le 10<sup>e</sup> jour.

Lorsque on nourrit pendant 4 mois les souris avec ce ferment, on constate sa présence pendant quatre semaines encore après le passage au régime ordinaire; après un mois et demi, pendant quinze jours. Et même après que le ferment a complètement disparu de l'intestin, nous avons constaté pendant deux mois encore des traces de son action: diminution générale du nombre des bactéries et affaiblissement de l'odeur dégagée par des cultures ensemencées avec des excréments.

Les résultats de l'étude, menée de front avec les précédentes, de l'apparition dans la flore excrémentitielle du *B. pyocyaneus* et de *B. prodigiosus*, ont été bien différents.

Le premier apparaît le 11<sup>e</sup> jour après le commencement du régime et, administré pendant 4 mois, disparaît le 5<sup>e</sup> jour après avoir été absorbé pour la dernière fois.

Le second n'a pu s'acclimater qu'un mois après qu'on eût commencé à l'administrer aux animaux et disparut 9 jours après la cessation du régime.

Pour terminer nos recherches, nous avons essayé d'étudier l'influence du microbe bulgare sur les maladies intestinales des souris, provoquées par la bactérie de Danysz<sup>1</sup>. On sait que cette maladie a pour symptôme une forte diarrhée suivie de septicémie et entraînant une issue fatale.

Comme base de nos expériences, nous avons pris certaines indications relatives aux succès thérapeutiques de la lactobacil-

1. *Ann. Institut Pasteur*, 1900, p. 193

line dans les affections intestinales. Voir les communications de Cohendy<sup>1</sup>, Brochet<sup>2</sup> et Martinet<sup>3</sup>).

La première expérience était celle-ci : On dispose 4 récipi-ents en verre contenant chacun 4 souris. Le premier groupe recevait, avec la nourriture, une culture d'un jour du microbe de la maladie de Danysz; pour les autres groupes on mélangeait à cette culture : 1° notre ferment, 2° le même ferment chauffé à 56°, et 3° du lait coagulé au moyen d'une quantité équivalente d'acide lactique. Les résultats obtenus ont été les suivants : les 4 premières souris ont succombé, 3 au bout de 24 heures, la quatrième au bout de 3 jours; les autres ont survécu.

Dans les expériences suivantes le ferment était administré après que les souris eurent absorbé des cultures pures et se trouvaient déjà malades. Dans ces cas également, nous avons pu constater l'action bienfaisante du ferment, à moins que les souris ne fussent trop gravement atteintes. Cependant l'administration de l'acide lactique donnait les mêmes résultats. Il est probable que ce qui agissait dans ces cas, c'était l'acide lactique, tandis que le ferment lui-même ne jouait, comme tel, aucun rôle particulier.

#### RÉSUMÉ.

Le ferment bulgare exerce une influence marquée sur la flore excrémentitielle des souris. Les modifications qu'il provoque sont : la diminution du nombre de bactéries, la transformation générale de la flore, la diminution de la faculté de provoquer la putréfaction, la virulence moindre des excréments.

L'action du ferment ne peut pas être exclusivement attribuée à la production de l'action lactique : les produits sécrétés par ses bactéries y jouent également un rôle considérable.

Le ferment s'acclimate dans l'intestin après un certain délai (10 jours pour les souris adultes). Après qu'on eut cessé de

1. Essai de traitement de l'entérite muco-membraneuse aiguë, etc. *C. R. Société Biol.* 1906, n° 18.

2. Cité par Tarkhanoff dans « L'importance du lait caillé du professeur Metchnikoff pour la santé » (en russe). *Le Médecin russe (Rouski Vrach)*, 1906, n° 11.

3. Administration du lait caillé dans le néoplasme stomacopancréatique, *La Presse Médicale*, 1906, p. 40

l'administrer, il reste dans l'intestin pendant un temps plus ou moins considérable encore.

Les cultures faites dans du lait exercent une action bienfaisante sur les souris contaminées par les bactéries de Danysz. Mais ici l'action est due exclusivement à l'acide lactique.

Je me permettrai de terminer cette étude en exprimant ma sincère gratitude à M. le professeur E. Metchnikoff pour le sujet si intéressant qu'il m'a indiqué et pour ses précieux conseils, ainsi que pour la cordialité qu'il m'a témoignée pendant mon séjour au laboratoire.

J'exprime également toute ma reconnaissance à M. le docteur Besredka et à M. le docteur Weinberg.

---



# MÉTHODE POUR ISOLER LES ANAÉROBIES

PAR F. MARINO

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Depuis quelque temps nous étudions la flore intestinale de l'homme et d'autres mammifères, ainsi que celle des oiseaux et des poissons.

En présence de l'insuffisance ou de l'incommodité des méthodes usuelles pour l'isolement des anaérobies stricts, nous avons senti combien serait avantageux un procédé assurant, avec le minimum de manipulations, un prélèvement facile des colonies isolées.

En conséquence, nous avons imaginé la méthode suivante, basée sur l'emploi de deux substances : la glucose, recommandée par Liborius <sup>1</sup> comme réducteur, et le sérum, préconisé par Duenschmann <sup>2</sup> comme matière animale.

Voici les détails de notre procédé :

A la gélose ordinaire on ajoute 0,3 à 0,5 0/0 de glucose, puis on répartit le milieu nutritif dans de gros tubes à essai, de façon que chaque tube en contienne de 30 à 35 c. c.

1. LIBORIUS, *Zeitschrift f. Hyg.*, Bd. I, 1886, pages 122 et 165.

Au sujet de la proportion de glucose qu'il faut ajouter au milieu nutritif, nous devons faire remarquer qu'on ne doit jamais dépasser 0,5 0/0. Liborius, en Allemagne, et d'autres savants, en France, croyaient que l'adjonction de 2 0/0 de glucose hâtait le développement des anaérobies. Mais plus tard on a constaté, — et c'est Th. Smith qui a attiré avec insistance l'attention sur ce point — que la proportion de 2 0/0 de glucose, dans beaucoup de cas, endommage la culture et en empêche le développement.

D'après Th. Smith le glucose est indispensable pour le développement des anaérobies stricts, mais il ne doit pas être en excès. (Voir TH. SMITH, *Centralb. f. Bakter. Abth.* Bd. XVIII, 1895, page 7 ; *Ib.*, Bd. XXII, 1897, page 49.)

2. DUENSCHMANN H., Etude expérimentale sur le charbon symptomatique et ses relations avec l'œdème malin, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 492.

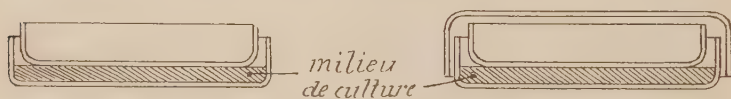
A propos de ce travail nous devons faire remarquer que plusieurs savants italiens et allemands, ignorant les recherches de Duenschmann faites dans le laboratoire de M. Roux, ont donné comme très nouveau l'emploi du sérum et des tissus animaux et végétaux dans les cultures des anaérobies. On a l'habitude, à l'Institut Pasteur, d'ajouter du sérum au milieu de culture des microbes anaérobies à l'effet d'obtenir un rendement de toxine plus élevé.

Dès 1894, dans le même but, Duenschmann a essayé des milieux de plus en plus riches en matières albuminoïdes, (macération de viande, sérum de bœuf) M. Roux, lui-même (cité par Duenschmann, p. 402), avant les recherches de Duenschmann, avait employé le sérum de bœuf pour cultiver le vibrion septique. Dans notre procédé d'isolement le sérum est aussi très utile et hâte le développement de tous les anaérobies

Pour l'emploi, on liquéfie le milieu dans l'eau bouillante et ensuite on met les tubes au thermostat à 42°. Lorsque les tubes ont pris cette température, on verse dans chacun d'eux 1 c. c. de sérum de lapin ou de cheval, préalablement chauffé à 55° pendant 20 minutes, puis on ensemence la matière à examiner. Du premier tube on ensemence le deuxième, de celui-ci le troisième et quelquefois de ce dernier un quatrième, pour avoir des colonies suffisamment isolées.

Après avoir fait tous les ensemencements, on verse la gélose de chaque tube dans la moitié la plus large d'une boîte de Petri et on la recouvre de la seconde moitié, en tournant en haut l'ouverture de celle-ci; ainsi le milieu est compris et pressé entre deux surfaces de verre parfaitement stériles.

Nous recommandons, pour plus de commodité, de stériliser les boîtes de Petri en déposant les deux moitiés dans le rapport où elles doivent se trouver après l'introduction de la gélose



entre elles. On n'a ainsi qu'à soulever la partie supérieure et on évite toute souillure des faces qui doivent rentrer en contact avec le milieu de culture. Pour éviter toute contamination par l'air extérieur, on recouvre le tout par une plaque plus grande qui est stérilisée en même temps que les plaques sous-jacentes.

On laisse 3 à 4 jours les boîtes à l'étuve pour permettre à tous les anaérobies de se développer et pour faire disparaître l'eau de condensation que pourrait contaminer les colonies pures.

Il va sans dire que le développement d'un certain nombre d'anaérobies, qu'on voit commencer après 18 à 24 heures, peut être observé à l'œil nu ou au microscope.

Pour le prélèvement des colonies, on détache doucement les deux surfaces de verre l'une de l'autre, de façon que la lame de gélose reste adhérente à l'une ou l'autre d'entre elles, et on pêche les colonies avec une pipette de verre effilée à son extrémité.

Au fur et à mesure qu'on isole les colonies pour les mettre

dans des milieux liquides ou autres, on préserve la boîte de Petri de toute contamination en la mettant sous une cloche stérile où on peut la laisser plusieurs jours.

Dans notre méthode, comme dans celle de MM. Veillon et Zuber, la pipette est presque indispensable.

Nous faisons observer qu'on se trouve quelquefois en présence d'anaérobies très exigeants (certaines espèces de l'intestin), qui se développent très lentement.

Les causes de ce phénomène nous sont inconnues, mais en ce cas nous conseillons de faire des cultures anaérobies en gélose fraîche et chauffée, à laquelle on ajoute, avec le sérum, 3 0/0 de glucose et 3 0/0 de lactose.

Quand les microbes se sont développés, on peut les isoler et les cultiver fort bien en milieu liquide (tubes de Roux <sup>1</sup>, d'Achalme).

Jusqu'à présent, pour toute espèce d'isolement d'anaérobies, nous nous sommes servi de la méthode de MM. Veillon et Zuber <sup>2</sup> qui est *très commode pour cultiver les anaérobies à l'état de cultures pures*, mais qui ne se prête pas bien à l'isolement des germes contenus dans un mélange microbien quelconque. (Impossibilité d'observer les colonies au microscope, difficulté de les prélever, etc.)

En dehors de la méthode de M. Veillon, il y a celle, insuffisante à notre avis, de Koch <sup>3</sup>. Cet auteur pensait qu'on pouvait cultiver les anaérobies en tenant à l'abri de l'air des cultures faites en boîtes.

Dans ce but, il mettait sur la gélatine, gélose ou autre milieu, une mince lame de mica stérilisée à la flamme. Cette méthode ne donne pas de bons résultats, car on sait que la pression, seule, est impuissante à chasser complètement l'oxygène du milieu de culture. Une méthode qui n'assure pas cette expulsion parfaite est toujours défectueuse, car, d'après les études très intéressantes de Beijerinck <sup>4</sup>, nous savons qu'il existe deux espèces d'anaérobies :

1. ROUX E., Sur la culture des microbes anaérobies, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, page 49.

2. VEILLON ET ZUBER, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie, *Archives de médecine expérimentale*, 1898, page 517.

3. KOCH R., *Deutsche med. Wochenschr.*, 1884, p. 502.

4. BEIJERINCK, *Die Butylalcoholgährung*, Amsterdam, 1893, p. 27.

Une qui peut absorber toute trace d'oxygène libre contenu dans les milieux nutritifs;

Une autre qui ne possède pas cette propriété et qui exige, pour son développement, une absence absolue d'oxygène libre.

Donc, pour cette dernière espèce, la méthode de Koch, critiquée aussi par Liborius <sup>1</sup>, serait inapplicable.

Nous ne prétendons pas d'ailleurs que notre méthode soit à l'abri de toute critique, mais, telle qu'elle est, elle peut rendre d'utiles services. Les bons résultats que nous en avons obtenus, nous ont déterminé à la faire connaître.

1. LIBORIUS, *l. c.*

---



## TABLE DES MATIÈRES

---

Recherches sur le traitement des infections expérimentales à trypanosoma gambiense, par F. MESNIL, MAURICE NICOLLE et P. AUBERT.....	1
Action de la bile sur le pneumocoque et diverses autres bactéries, par MAURICE NICOLLE et ADIL-BEY.....	20
Séro-immunité vis-à-vis du « choléate de soude », par MAURICE NICOLLE.....	26
Études épidémiologiques et prophylactiques du paludisme. Cinquième campagne en Algérie, 1906, par les Drs EDMOND SERGENT et ETIENNE SERGENT.....	28
Manifestations oculaires au cours des trypanosomiasés, par V. MORAX.....	47
Recherches sur les microbes anaérobies des eaux. Contribution à l'étude bactériologique des eaux potables, 2 <sup>e</sup> mémoire, par H. VINCENT.....	62
Application de la méthode de distillation fractionnée de Duclaux, à la recherche et au dosage des acides isobutyrique et valérique normal, par A. LASSERRE.....	76
Études épidémiologiques et prophylactiques du paludisme, cinquième campagne en Algérie, 1906 (suite et fin), par les Drs EDMOND SERGENT et ETIENNE SERGENT.....	81
De l'anaphylaxie et de l'anti-anaphylaxie vis-à-vis du sérum de cheval, par A. BESREDKA et EDNA STEINHARDT.....	117
Contribution à l'étude du « phénomène d'Arthus », par MAURICE NICOLLE.....	128
Les « anticorps syphilitiques », dans le liquide céphalorachidien des paralytiques généraux et des tabétiques, par A. MARIE (DE VILLEJUIF) et C. LEVADITI.....	138
Sur le traitement de la rage par le radium, par le Dr A. CALABRESE. Réponse à M. le professeur Tizzoni.....	156
Maladie du sommeil. Cinq nouveaux cas de trypanosomiose chez les blancs. Essais de traitement, par Louis MARTIN.....	161
De la maladie toxique provoquée par l'injection intrastomacale de bacilles morveux tués, par le Dr J. CANTA-	

CUZÈNE et P. RIEGLER.....	194
Les trypanosomiasés animales au Sénégal, par THIROUX et TEPPAZ.....	211
Sur un Hémocytozoaire d'un Cheiroptère, par le Dr J.-J. VASSAL.....	224
Procédé simple et rapide de préparation des milieux gélés et gélatinés, par BISSÉRIÉ.....	235
Sur le traitement de la rage par le radium, par G. TIZZONI et BONGIOVANNI. Réponse à M. le Dr A. Calabrese.....	239
La sérothérapie dans le traitement de la dysenterie bacil- laire, par VAILLARD et CH. DOPTER.....	244
Etudes sur les Hématozoaires d'oiseaux. ( <i>Plasmodium relictum</i> , <i>Leucocytozoon ziemanni</i> et <i>Haemoproteus noctuæ</i> , <i>Haemoproteus columbæ</i> , Trypanosome de l'hirondelle, Algérie, 1906), par les Drs EDMOND SERGENT et ETIENNE SERGENT.....	251
Etudes sur la morve expérimentale du cobaye, par MAU- RICE NICOLLE.....	281
Recherches sur l'infection provoquée par le spirille de la Tick-fever, par LEVADITI et MANOUÉLIAN.....	295
Action du vin sur le bacille d'Eberth, par J. SABRAZÈS et A. MARCANDIER.....	312
Sur les trypanosomiasés du haut Niger, par A. LAVERAN..	321
Les trypanosomiasés animales de la Guinée française, par le Dr GUSTAVE MARTIN.....	357
Du mécanisme de l'anti-anaphylaxie, par A. BESREDKA et EDNA STEINHARDT.....	384
La « Thim'ni », myiase humaine d'Algérie causée par <i>Æstrus ovis</i> L., par les Drs EDMOND SERGENT et ETIENNE SERGENT.....	392
Contribution à l'étude de la tuberculose expérimentale du cobaye. (Infection et essais de vaccination par la voie digestive), par A. CALMETTE, C. GUÉRIN et M. BRETON...	401
Du rôle des helminthes. des larves d'helminthes et des larves d'insectes dans la transmission des microbes pathogènes, par WEINBERG.....	417
Action de la pipéridine et de quelques autres amines sur les bactéries et, en particulier, sur le bacille de la morve, par M. NICOLLE et A. FROUIN.....	443

Sur la cytologie comparée des spirochètes et spirilles, par M. H. SWELLENGREBEL.....	448
Transmission de <i>Trypanosoma dimorphon</i> par <i>Glossina</i> palpalis R. desv., par E. ROUBAUD.....	466
Les trypanosomiasés animales de la Basse-Côte d'Ivoire, par le Dr G. BOUET.....	468
Recherches sur les propriétés colloïdales de l'amidon et sur un mécanisme de migration de l'amidon dans les végétaux, par E. FOUARD.....	475
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur, en 1906, par JULES VIALA.....	485
Sur le traitement de la rage par le radium, par le Dr A. CALABRESE. Seconde réponse à MM. Tizzoni et Bon- giovanni.....	489
Le radium et la rage, dernière réponse au Dr Calabrese, par le professeur GUIDO TIZZONI et le Dr ALESSANDRO BONGIOVANNI.....	494
Sur le traitement de la rage par le radium, par le Dr A. CALABRESE. Dernière réponse à MM. Tizzoni et Bon- giovanni.....	496
De l'anaphylaxie en général et de l'anaphylaxie par la mytilo-congestine en particulier, par CHARLES RICHEL..	497
Contribution à l'étude de la vaccination des bovidés contre la tuberculose par les voies digestives, par A. CALMETTE et C. GUÉRIN.....	525
Du rôle des helminthes, des larves d'helminthes, dans la transmission des microbes pathogènes, par M. WEIN- BERG.....	533
Sur la cytologie comparée des spirochètes et des spirilles. par N. H. SWELLENGREBEL.....	562
La Souma. Trypanosomiasé du Soudan français, par le Dr BOUFFARD (G.).....	587
Sur le rôle de la rate dans les trypanosomiasés, par A. LAVERAN et A. THIROUX.....	593
Action du <i>Bacillus subtilis</i> sur diverses bactéries, par MAURICE NICOLLE.....	613
Rôle des bactéries dans le développement de certains myxomycètes, par ERNEST PINOY.....	622
Sur un piroplasme du <i>Cervus aristotelis</i> de l'Annam, par	

le Dr DENIER.....	657
Hématozoaires des bovidés en Indo-Chine, par H. SCHEIN.....	659
Stomoxys nouveaux du Congo, par E. ROUBAUD.....	666
Note biologique sur un type adapté de <i>Simulium reptans</i> du Congo équatorial, par E. ROUBAUD.....	670
Recherches sur l'influence paralysante exercée par cer- tains acides sur la laccase, par GABRIEL BERTRAND.....	673
Rôle des bactéries dans le développement de certains myxomycètes (suite et fin), par ERNEST PINOY.....	686
Action antiseptique du méthanal sec aux différentes tem- pératures, sur les germes microbiens et en particulier sur les spores du <i>Bacillus subtilis</i> , par L. PERDRIX....	701
Note complémentaire sur le microbe de la coqueluche, par les Drs J. BORDET et O. GENGOU.....	720
Le microbe de la coqueluche (Remarques sur le travail de MM. Bordet et Gengou), par le Dr REYHER de Berlin..	727
Le microbe de la coqueluche. Réponse à l'article de M. Reyher, par les Drs J. BORDET et O. GENGOU....	733
Contribution à l'étude du surra d'Indo-Chine, par H. SCHEIN.....	739
Sur la prophylaxie de la syphilis, par ELIE METCHNIKOFF...	753
Recherches sur le cancer expérimental des souris, par J. BRIDRÉ.....	760
Toxicité des sérums thérapeutiques, sa variabilité et son dosage, par le Dr BESREDKA.....	777
Contribution à l'étude de la culture du <i>Treponema palli- dum</i> , par MM. C. LEVADITI et J. Mc INTOSH.....	784
Action de l'extrait de sclérostomes sur le sang de cheval, par M. WEINBERG.....	798
Etude expérimentale sur l'association du spirille de la Tick-fever et de diverses Trypanosomes, par le Dr R. TRAUTMANN.....	808
Sur des régions paludéennes prétendues indemnes d'ano- phèles en Algérie, par les Drs EDMOND SERGENT et ETIENNE SERGENT.....	825
Analyse de quelques mélanges d'acides gras volatils, par A. LASSEIRE.....	829
Recherches sur le mode de coloration du pain bis, par MM. GABRIEL BERTRAND et W. MUTERMILCH.....	833



Des tropismes du <i>bacterium zopfi</i> kurth, 2 <sup>e</sup> note, par le Dr EDMOND SERGENT.....	842
Nouvelle contribution à l'étude de l'hématozoaire de l'Écu- reuil ( <i>Hæmamoeba vassali</i> Lav.), par le Dr J.-J. VASSAL.....	851
Etudes sur les cellules pigmentaires des vertébrés, par E. GOLOVINE (avec la pl. XXI).....	858
Pouvoir préventif et pouvoir curatif du sérum humain dans l'infection due au Trypanosome du Nagana, par le Dr OSWALD GOEBEL.....	882
Contribution à l'étude des Trypanosomiasés de l'Afrique occidentale; quelques modifications de virulence, par M. CAZALBÔU.....	911
Relations entre le venin de cobra et son antitoxine, par A. CALMETTE et L. MASSOL.....	929
Traitement des infections expérimentales à <i>Trypanosoma</i> gambiense. Résultats tardifs, par F. MESNIL et M. NI- COLLE.....	946
Comment peut-on combattre l'anaphylaxie, par le Dr BES- REDKA.....	950
Lésions de l'intestin grêle du porc produites par l'Échi- norynque géant, par MM. WEINBERG et ROMANO- VITCH.....	960
Les Trypanosomiasés de la Haute-Côte d'Ivoire (Note préliminaire), par le Dr G. BOUET.....	969
Contribution à l'étude des opsonines, par J. G. SLEESWIJK.....	983
Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris, par J. BELONOVSKY.....	994
Méthode pour isoler les anaérobies par F. MARINO.....	1005

# TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

ADIL-BEY.....	Voir NICOLLE (M.).....	20
AUBERT (P.).....	Voir MESNIL (F.).....	100
BELONOVSKY (J.).....	Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris.....	991
BERTRAND (G.).....	Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la laccase.....	673
— et MUTERMILCH (W.)	Recherches sur le mode de coloration du pain bis.....	833
BESREDKA (A.).....	Toxicité des sérums thérapeutiques, sa variabilité et son dosage.....	777
— ..	Comment peut-on combattre l'anaphylaxie	950
— et STEINHARDT (E.)..	De l'anaphylaxie et de l'anti-anaphylaxie vis-à-vis du sérum de cheval.....	117
— ..	Du mécanisme de l'anti-anaphylaxie.....	384
BISSÉRIÉ.....	Procédé simple et rapide de préparation des milieux gélosés et gélatinés.....	235
BONGIOVANNI (A.).....	Voir TIZZONI.....	237
— ..	— ..	494
BORDET (J.) et GENGOU (O.)	Note complémentaire sur le microbe de la coqueluche.....	720
— —	Le microbe de la coqueluche. Réponse à l'article de M. REYHER.....	733
BOUET (G.).....	Les Trypanosomiasés animales de la Basse-Côte d'Ivoire.....	468
— ..	Les Trypanosomiasés de la Haute-Côte d'Ivoire (note préliminaire).....	969
BOUFFARD (G.).....	La Souma. Tripanosomiasé du Soudan français.....	587
BRETON (M.).....	Voir CALMETTE.....	401
BRIDRE (J.).....	Recherches sur le cancer expérimental des souris.....	760
CALABREZE (A.).....	Sur le traitement de la rage par le radium. — Réponse à MM. TIZZONI et BONGIO- VANNI .....	456
— ..	sur le traitement de la rage par le radium	
— ..	2 <sup>e</sup> Réponse à MM. TIZZONI et BONGIOVANNI	489
— ..	Sur le traitement de la rage par le radium. Dernière réponse à MM. TIZZONI et BON- GIOVANNI .....	496
CALMETTE (A.) et GUÉRIN..	Contribution à l'étude de la vaccination des bovidés contre la tuberculose, par les voies digestives.....	525
— et BRETON (M.)	Contribution à l'étude de la tuberculose	

	expérimentale du cobaye. (Infection et essais de vaccination par la voie digestive.).....	401
CALMETTE et MASSOL (L.)	Relation entre le venin de cobra et son antitoxine.....	929
CANTACUZÈNE (J.) et RIEGLER (P.).....	De la maladie toxique provoquée par l'injection intrastomacale de bacilles morveux tués.....	194
CAZALBOU (M.).....	Contribution à l'étude des Tripanosomiasis de l'Afrique occidentale; quelques modifications de virulence.....	911
DENIER.....	Sur un piroplasma du <i>cervus aristotelis</i> de l'Annam.....	657
DOPTER (Ch.).....	Voir VAILLARD.....	241
FOUARD (E.).....	Recherches sur les propriétés colloïdales de l'amidon et sur un mécanisme de migration de l'amidon dans les végétaux.....	475
FROUIN (A.).....	Voir NICOLLE (M.).....	443
GENGOU (O.).....	Voir BORDET.....	720
—	—	733
GOEBEL (O.).....	Pouvoir préventif et pouvoir curatif du sérum humain dans l'infection due au Trypanosome du Nagana.....	882
GOLOVINE (E.).....	Etudes sur les cellules pigmentaires des vertébrés (Avec la Pl. XXI).....	858
GUÉRIN (C.).....	Voir CALMETTE.....	401
INTOSH (J.-Mc.).....	Voir LEVADITI.....	784
LASSERRE (A.).....	Application de la méthode de distillation fractionnée de DUCLAUX à la recherche et au dosage des acides isobutyrique et valérique normal.....	76
LASSERRE (A.).....	Analyse de quelques mélanges d'acides gros volatiles.....	829
LAVERAN (A.).....	Sur les Tripanosomiasis du Haut-Niger.....	324
— et THIROUX	Sur le rôle de la rate dans les Tripanosomiasis.....	595
LEVADITI (C.).....	Voir MARIE (A.).....	138
— et MANOUÉLIAN	Recherches sur l'infection provoquée par le spirille de la Tick-fever (avec les Pl. VIII et IX).....	205
— et INTOSH (J.-Mc.)	Contribution à l'étude de la culture de <i>Treponema pallidum</i> .....	784
MARCANDIER (A.).....	Voir SABRAZÈS.....	312
MANOUÉLIAN.....	Voir LEVADITI.....	295
MARIE (A.) et LEVADITI...	Des anticorps syphilitiques dans le liquide céphalo-rachidien des paralytiques géné-	

	raux et des tabétiques.....	438
MARINO (F.).....	Méthode pour isoler les anaérobies.....	1005
MARTIN (G.).....	Les Trypanosomiasés animales de la Guinée française.....	357
MARTIN (L.).....	Maladie du sommeil. Cinq nouveaux cas de Trypanosomiasé chez les blancs. Essais de traitement.....	461
MASSOL (L.).....	Voir CALMETTE.....	929
MESNIL (F.) et NICOLLE (M.)	Traitement des infections expérimentales à <i>Trypanosomia gambiense</i> . Résultats tarifs.....	946
MESNIL (F.), NICOLLE (M.) et AUBERT (P)	Recherches sur le traitement des infections expérimentales à <i>Trypanosomia gam- biense</i> .....	1
METCHNIKOFF (E.).....	Sur la prophylaxie de la syphilis.....	753
MORAX (V.).....	Manifestations oculaires au cours des Trypa- nosomiasés (avec les Pl. I et II).....	47
MUTERMILCH (W.).....	Voir BERTRAND.....	833
NICOLLE (M.).....	Voir MESNIL.....	1
—	Séro-immunité vis-à-vis du choléate de soude.....	26
—	Contribution à l'étude du phénomène d'Arthus.....	128
—	Etudes sur la morve expérimentale du cobaye. (Compléments).....	284
—	Action du <i>bacillus subtilis</i> sur diverses bactéries.....	613
—	Voir MESNIL.....	946
et ADIL-BEY.....	Action de la bile sur le pneumocoque et diverses autres bactéries.....	20
et FROUIN (A.)...	Action de la pipéridine et de quelques autres amines sur les bactéries et en particulier sur le bacille de la morve... ..	443
PERDRIX (L.).....	Action antiseptique du méthanal sec, aux différentes températures, sur les germes microbiens et en particulier sur les spores du <i>bacillus subtilis</i> .....	701
PINOY (E.).....	Rôle des bactéries dans le développement de certains myxomycètes... ..	622 et 686
REYHER. ....	Le microbe de la coqueluche. (Remarques sur le travail de MM. Bordet et Gengou). ..	727
RICHEL (Charles).....	De l'anaphylaxie en général et de l'ana- phylaxie par le mytilo-congestine en particulier.....	497
RIEGLER (P.).....	Voir CANTACUZÈNE.....	194
ROMANOWITCH (M.).....	Voir WEINBERG.....	960
ROUBAUD (E.).....	Transmission de <i>Trypanosoma dimorphon</i> ,	



	par <i>Glossina palpalis</i> R. desv.....	466
ROUBAUD (E.).....	Stomoxys nouveaux du Congo.....	666
—	Note biologique sur un type adapté de <i>simulium reptans</i> du Congo équatorial.	670
SABRAZÈS (J.) et MARCAN-		
DIER (A).....	Action du vin sur le bacille d'Eberth.....	312
SCHEIN (H.).....	Hématozoaires des bovidés en Indo-Chine.	639
	Contribution à l'étude du Surra d'Indo-	
	Chine.....	739
SERGENT (Edmond).....	Des tropismes du <i>bacterium zopfi</i> Kurth,	
	2 <sup>e</sup> note.....	842
SERGENT (Edmond) et SER-	Etudes épidémiologiques et prophylactiques	
GENT (Etienne).....	du paludisme. 5 <sup>e</sup> campagne en Algérie.	
	1906.....	28-81
—	Etudes sur les Hématozoaires d'oiseaux	
	(Algérie, 1906), Pl. VI et VII).....	251
—	La Thim'ni, myiase humaine d'Algérie,	
	causée par <i>Oestrus ovis</i> L.....	392
—	Sur des régions paludéennes prétendues	
	indemnes d'anophèles en Algérie....	823
SERGENT (Etienne).....	Voir SERGENT (Ed.).....	28, 81, 251, 392
SLEESWIJK (J.-G.).....	Contribution à l'étude des opsonines.....	983
STEINHARDT (Edna).....	Voir BESREDKA.....	117-
SWELLENGREBEL (N.-H.)....	Sur la cytologie comparée des spirochètes	
	et spirilles.....	448- 562
TEPPAZ.....	Voir THIROUX.....	241
THIROUX (A.).....	Voir LAVERAN.....	593
— et TEPPAZ....	Les trypanosomiasés animales au Sénégal	
	(avec la pl. IV).....	241
TIZZONI (G.) et BONGIO-	Sur le traitement de la rage par le radium.	
VANNI (A.).....	Réponse à M. le Dr CALABRESE.	239
—	Le radium et la rage. Dernière réponse	
	au Dr CALABRESE.....	494
TRAUTMANN (R.).....	Etude expérimentale sur l'association du	
	spirille de la Tick-fever et de divers	
	Trypanosomes.....	808
VAILLARD et DOPTER.....	La sérothérapie dans le traitement de la	
	dysenterie bacillaire.....	241
VASSAL.....	Sur un Hématocytosoaire d'un Chéiroptère	
	(avec la pl. V).....	224
—	Nouvelle contribution à l'étude de l'Héma-	
	tozoaire de l'Ecureuil ( <i>Hæmanæba vas-</i>	
	<i>sali</i> (Lar.).....	851
WEINBERG..	Du rôle des Helminthes, des larves d'Hel-	
	minthes et des larves d'insectes dans la	
	transmission des microbes patho-	

	gènes.....	417 et	533
WEINBERG.....	Action de l'extrait de sclérostomes sur le sang de cheval.....		798
WEINBERG et ROMANO-VITCH (M.).....	Lésions de l'intestin grêle du porc produites par l'Echinorynque géant.....		960
VIALA (Jules).....	Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1906.....		485
VINCENT (H.).....	Recherches sur les microbes anaérobies des eaux. Contribution à l'étude bactériologique des eaux potables. 2 <sup>e</sup> mémoire.....		62

---

## TABLE DES PLANCHES

---

Pl. I et II.....	Mémoire de	V. MORAN.....	47
Pl. III.....	—	MM. J. CANTACUZÈNE et RIEGLER.....	194
Pl. IV.....	—	MM. THIROUX et TEPPAZ.....	211
Pl. V.....	—	M. VASSAL.....	224
Pl. VI et VII.....	—	MM. Edmond et Etienne SERGENT.....	251
Pl. VIII et IX.....	—	MM. LEVADITI et MANOUELIAN.....	295
Pl. X.....	—	M. VEINBERG.....	417
Pl. XI et XII.....	—	M. SWELLENGREBEL.....	448
Pl. XIII, XIV, XV, XVI.....	—	M. E. PINOY.....	622
Pl. XVII (partie sup.).....	—	M. DENIER.....	657
Pl. XVII (partie inf.).....	—	M. SCHEIN.....	659
Pl. XVIII.....	—	M. REYHER.....	727
Pl. XIX et XX.....	—	M. LEVADITI.....	784
Pl. XXI.....	—	M. GOLOVINE.....	858
Pl. XXII.....	—	MM. WEINBERG et ROMANOVITCH.....	960

---

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

---

*Le Gérant : G. MASSON.*









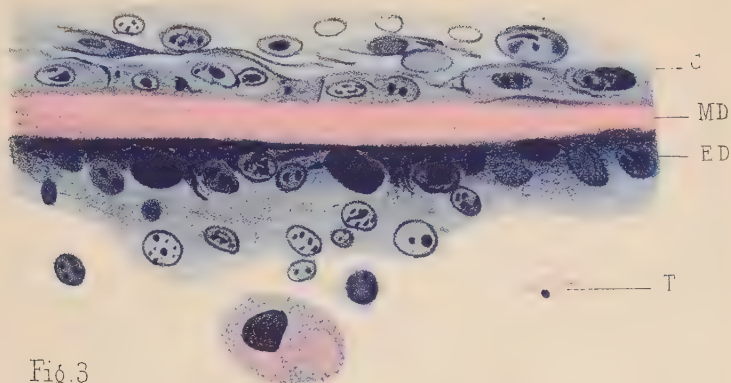
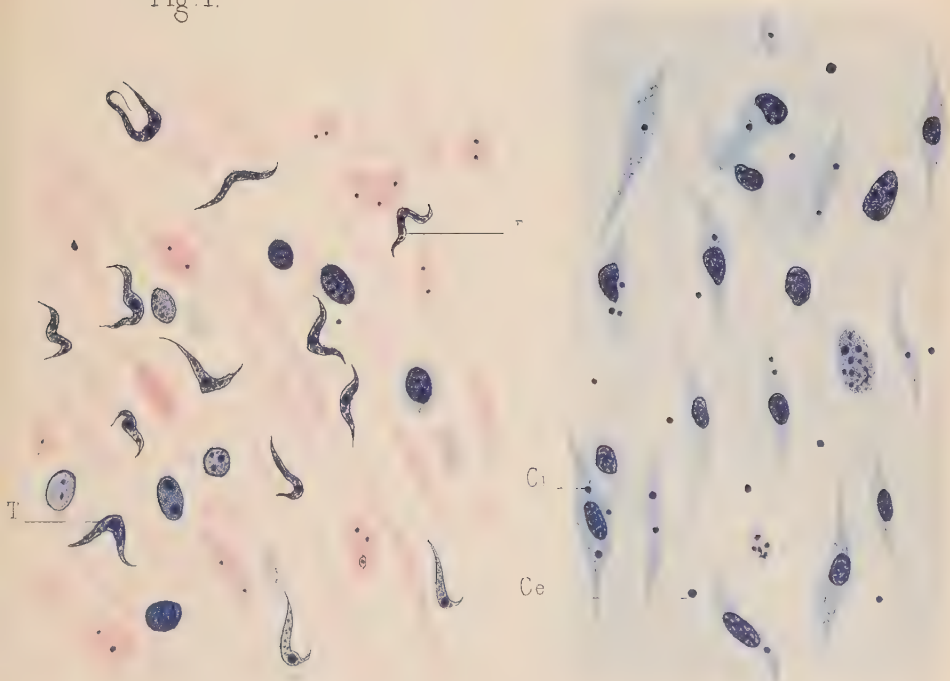


Fig. 3

Fig. 2

Fig. 1.

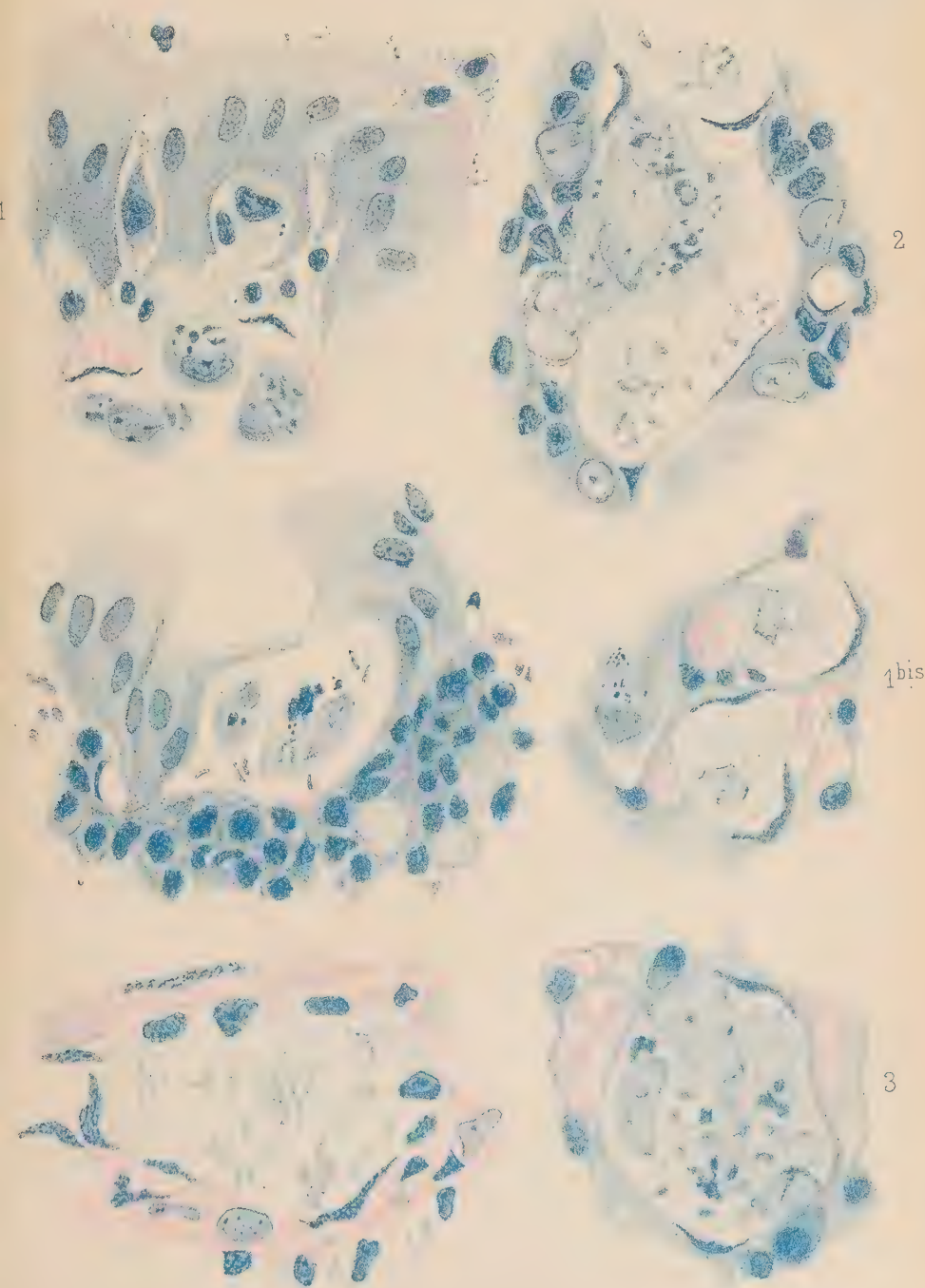


200  
1

800  
1



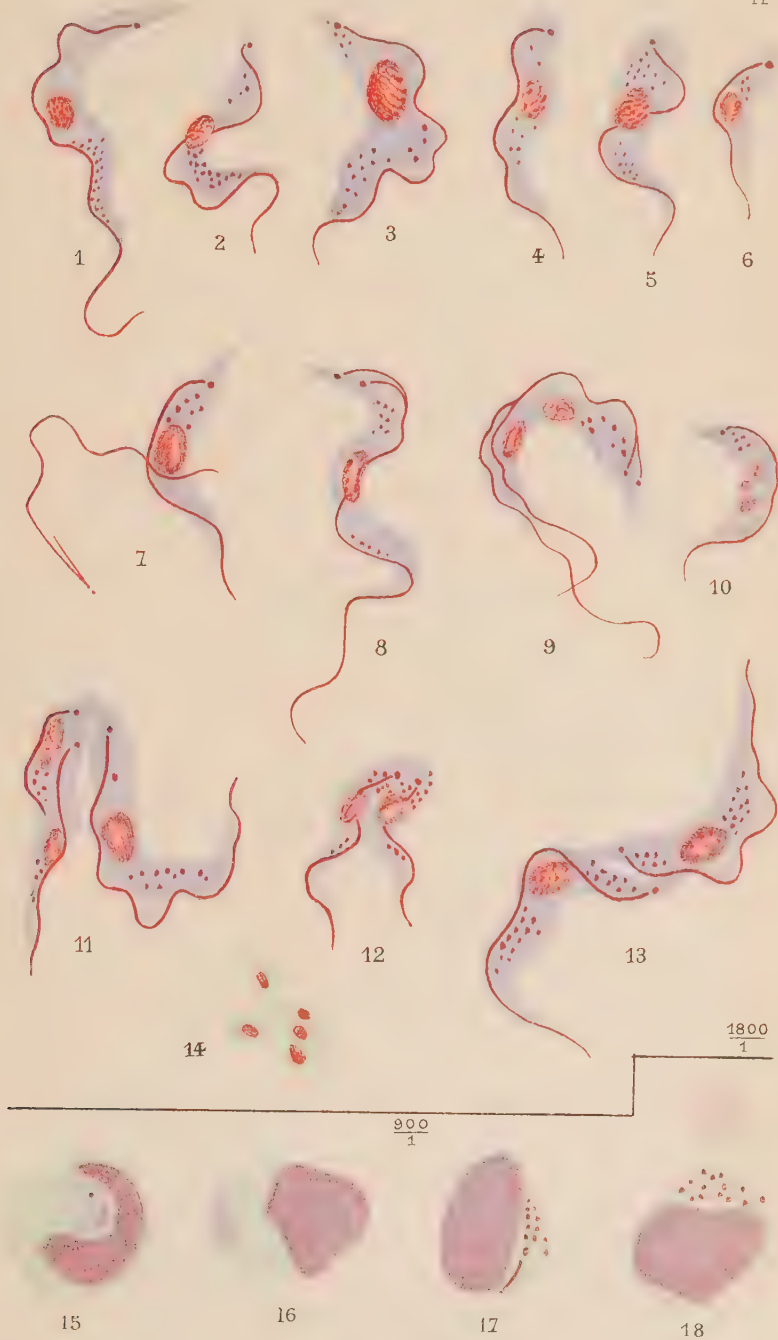




*J. Cantacuzene del.*

*V. Roussel lith.*





*D<sup>r</sup> Thiroux del.*

*V. Roussel lith.*

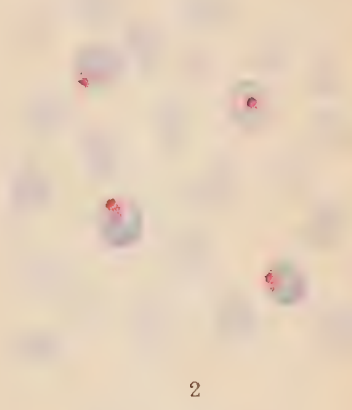
*Imp. L. Lafontaine, Paris.*







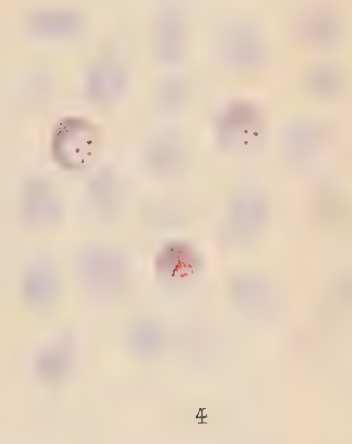
1



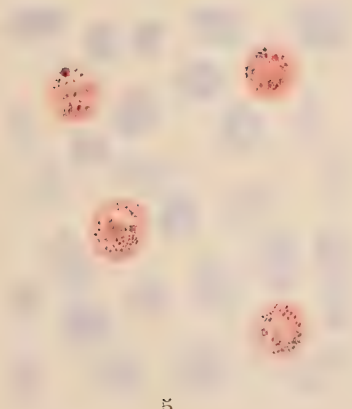
2



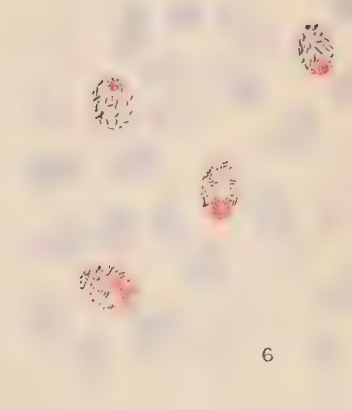
3



4



5



6

*D<sup>r</sup> Vassal del.*

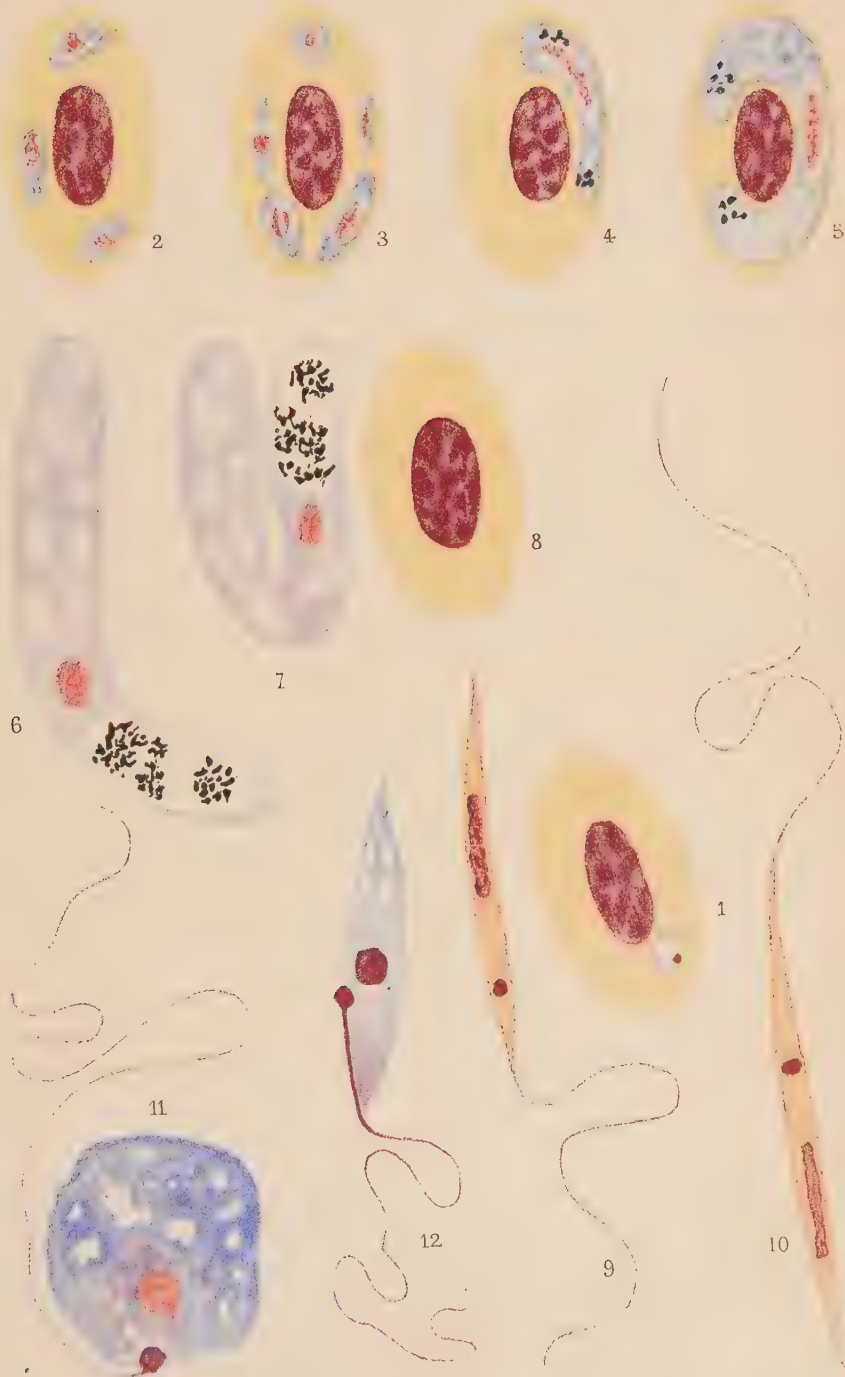
*V. Roussel lith.*



LINCHIA MAURA















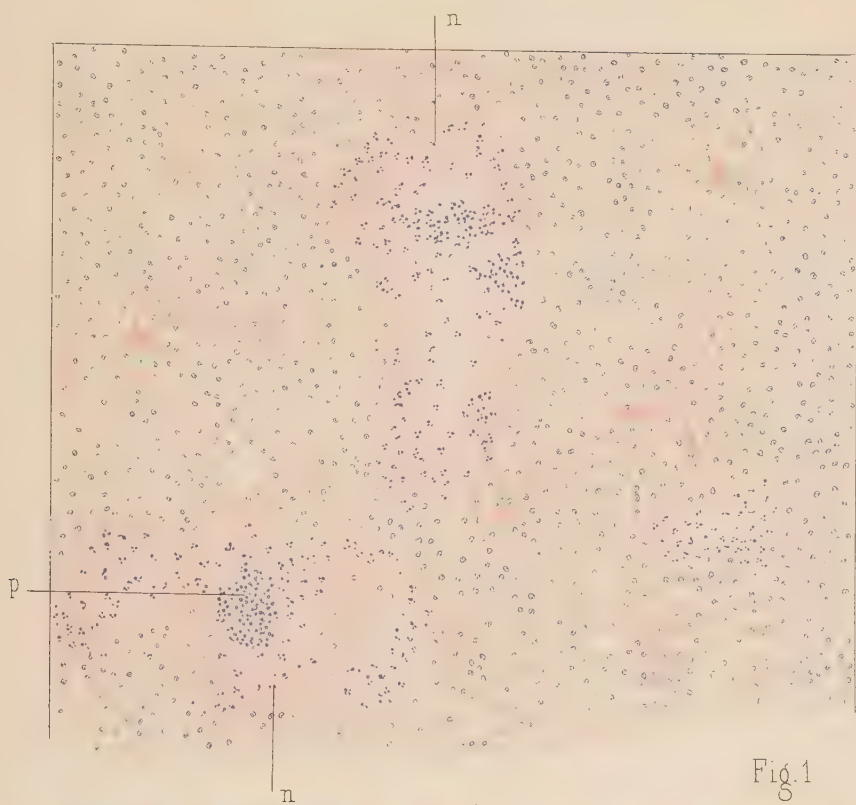


Fig. 1

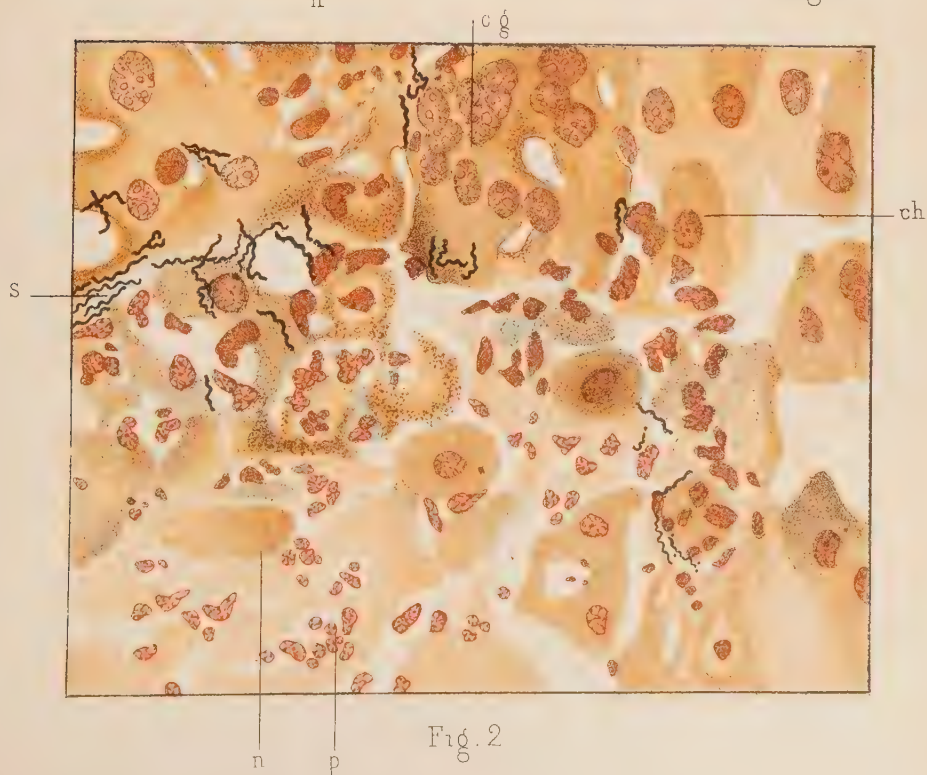


Fig. 2



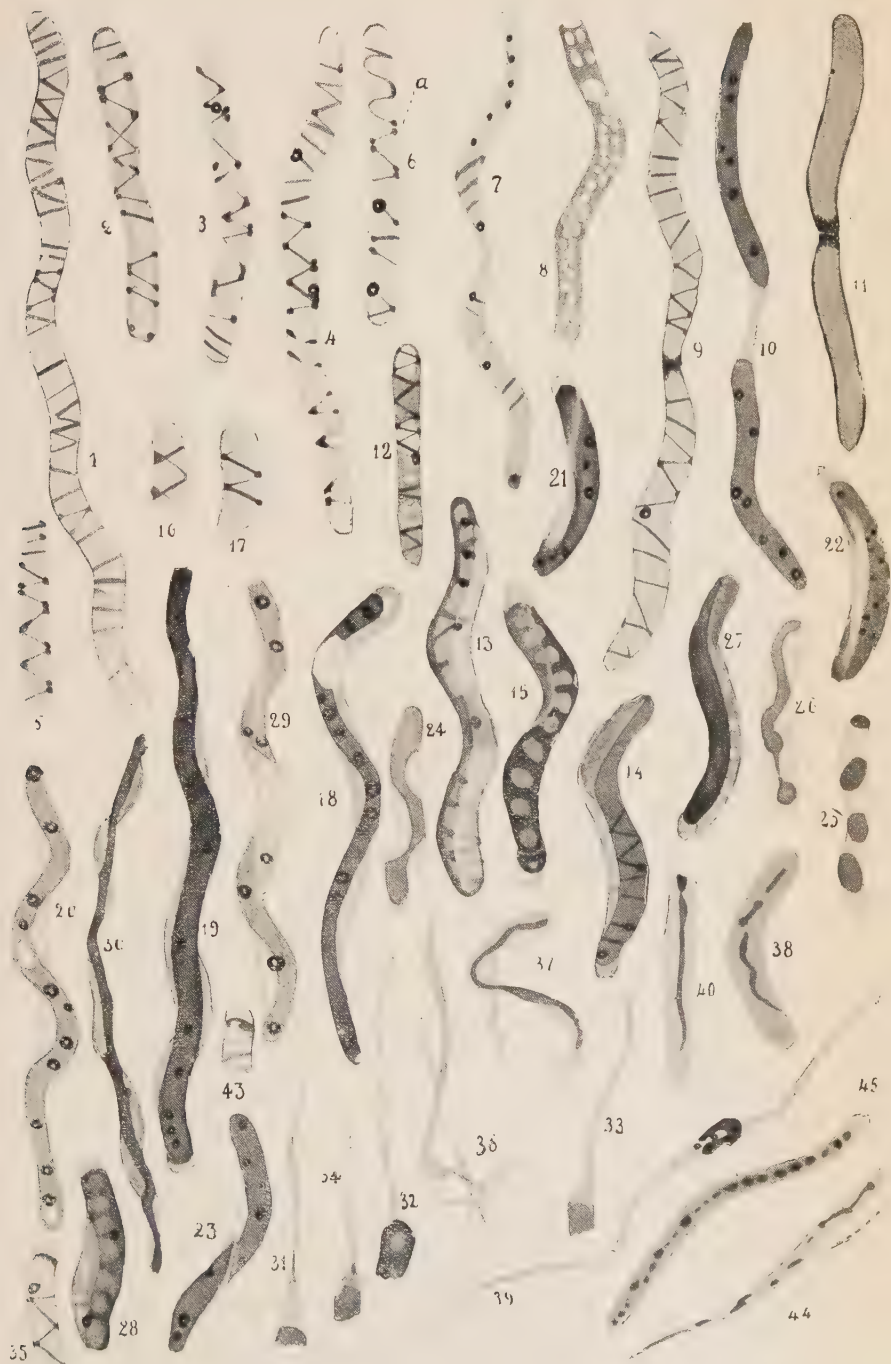




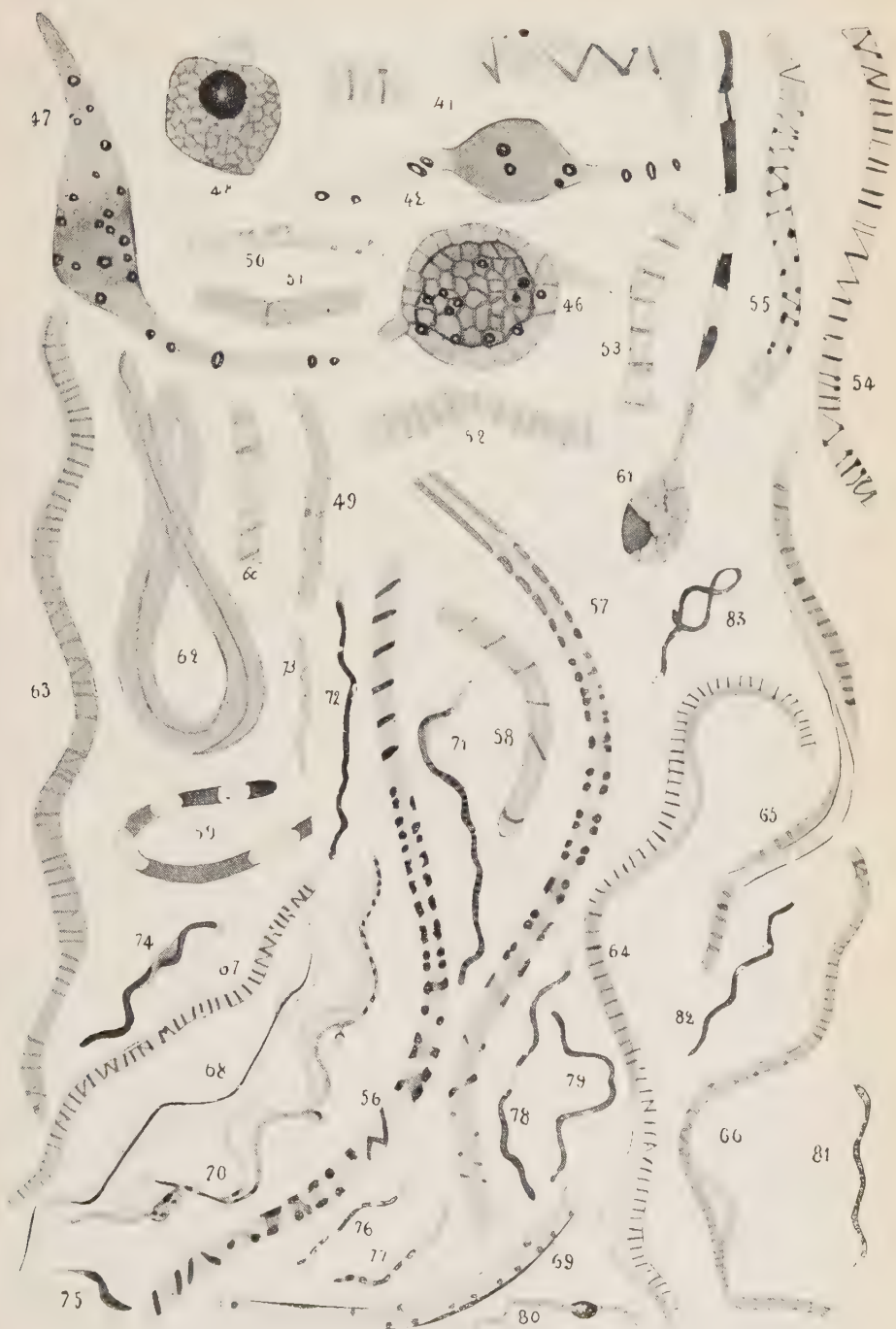
A. Parlati del.

V. Roussel lith.



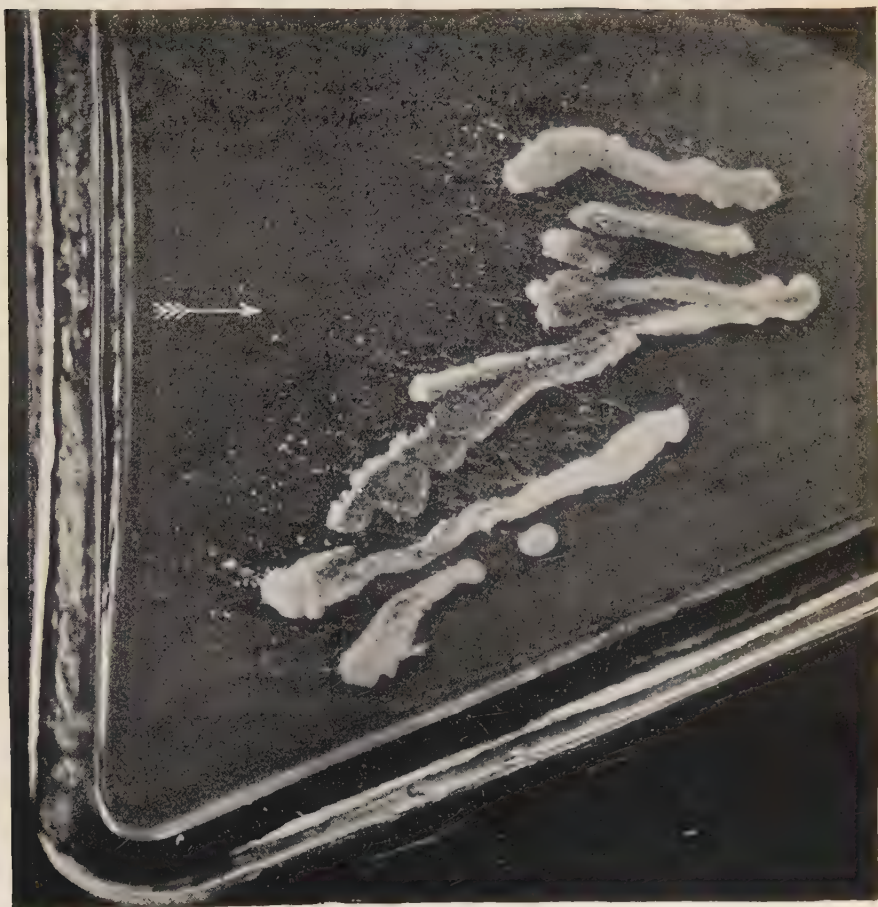










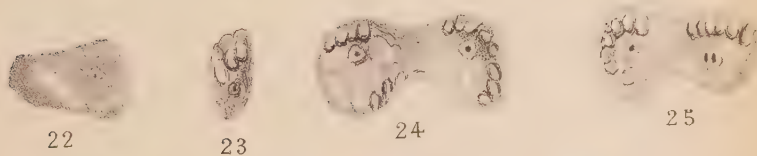


1

3

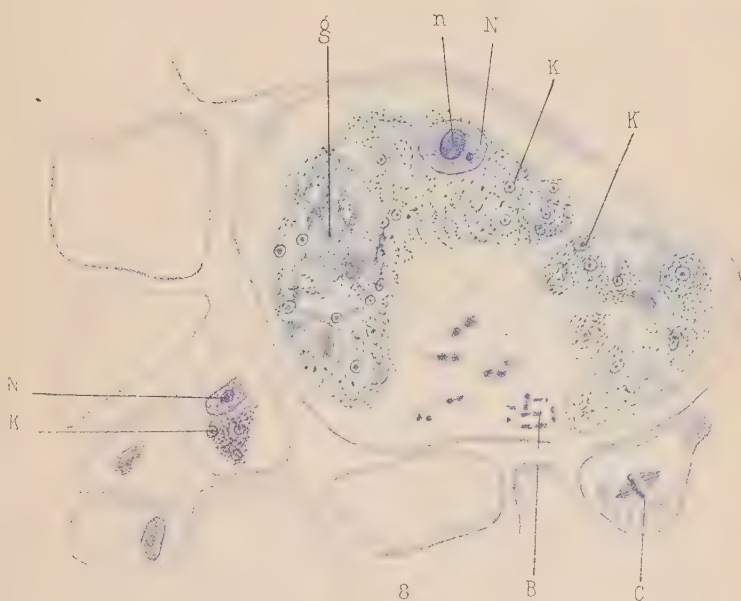
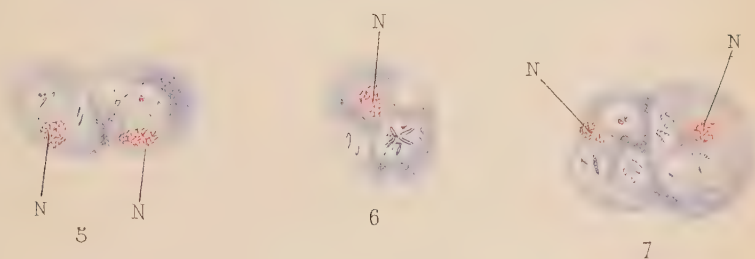
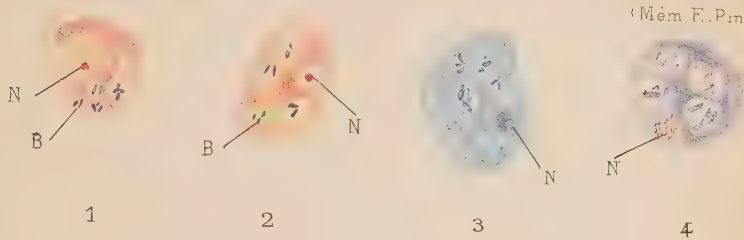




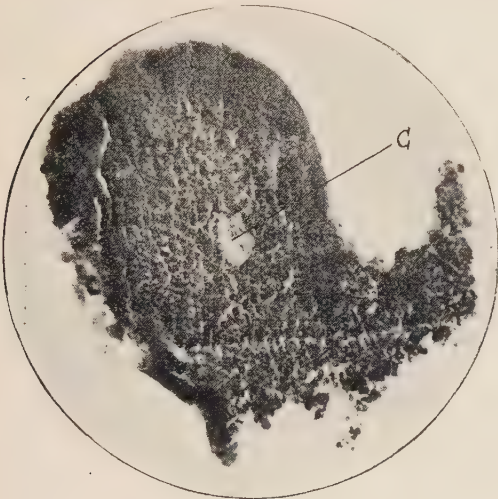












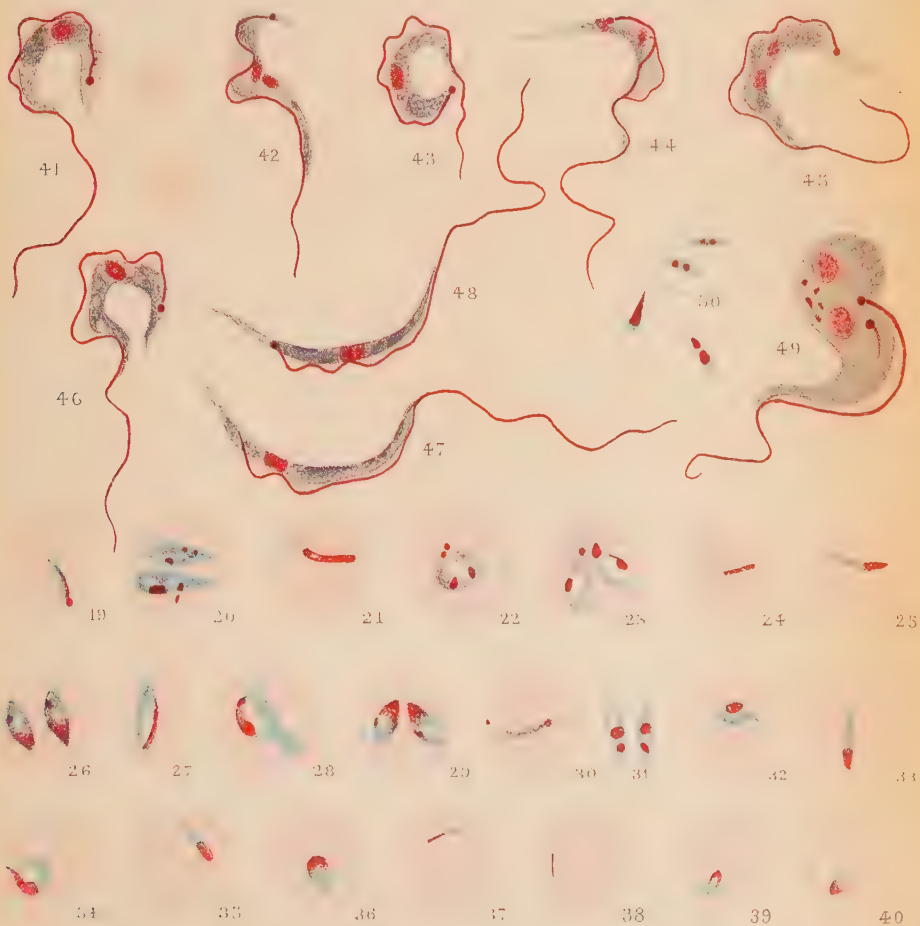
Jeantet, phot.

Imp. Bouchet, Cusset.





(Mém. Schein)







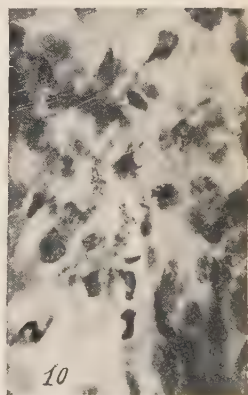
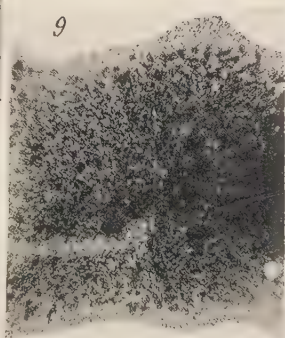
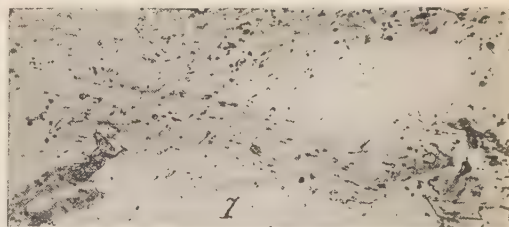
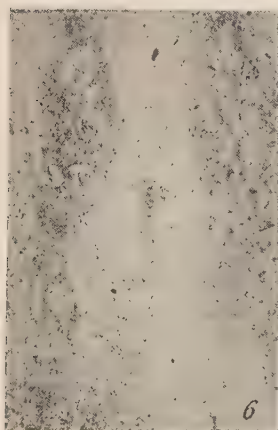
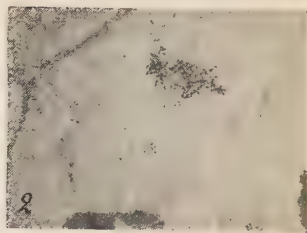
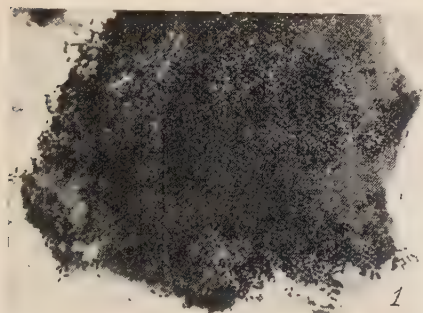






FIG. 1



FIG. 1

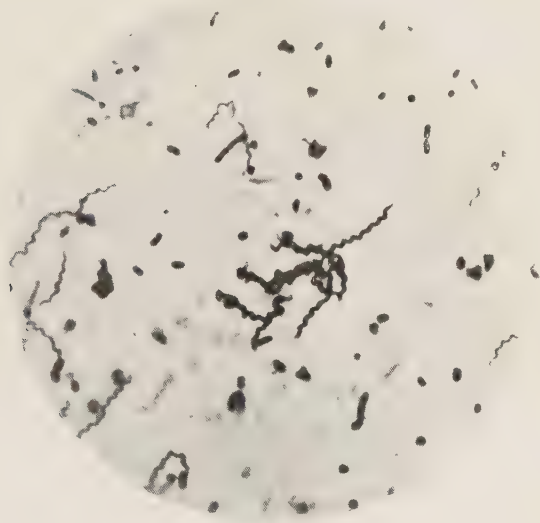


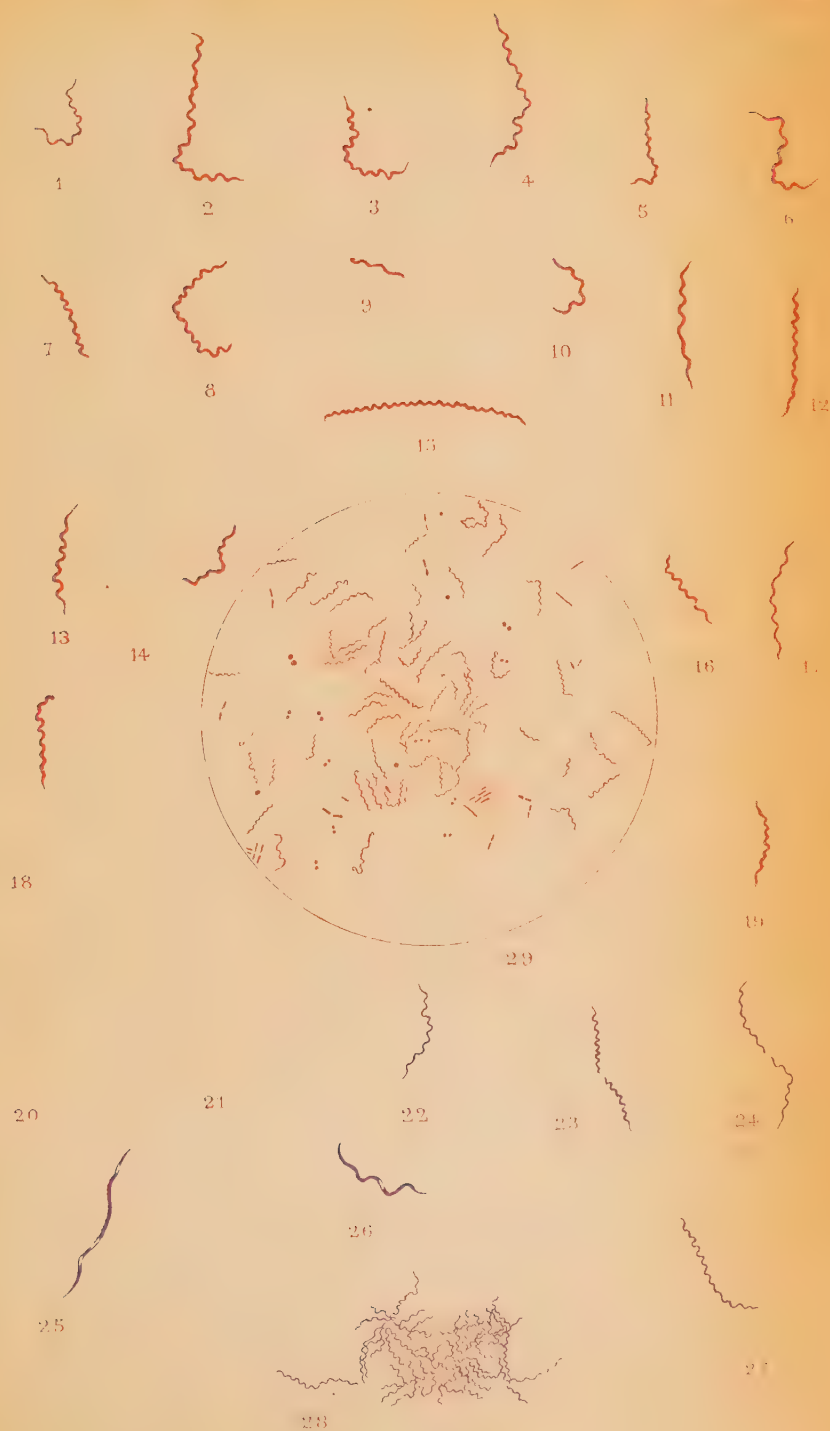
FIG. 3



FIG. 2









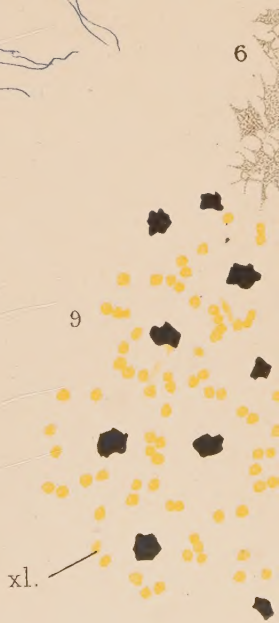






Fig. 1.

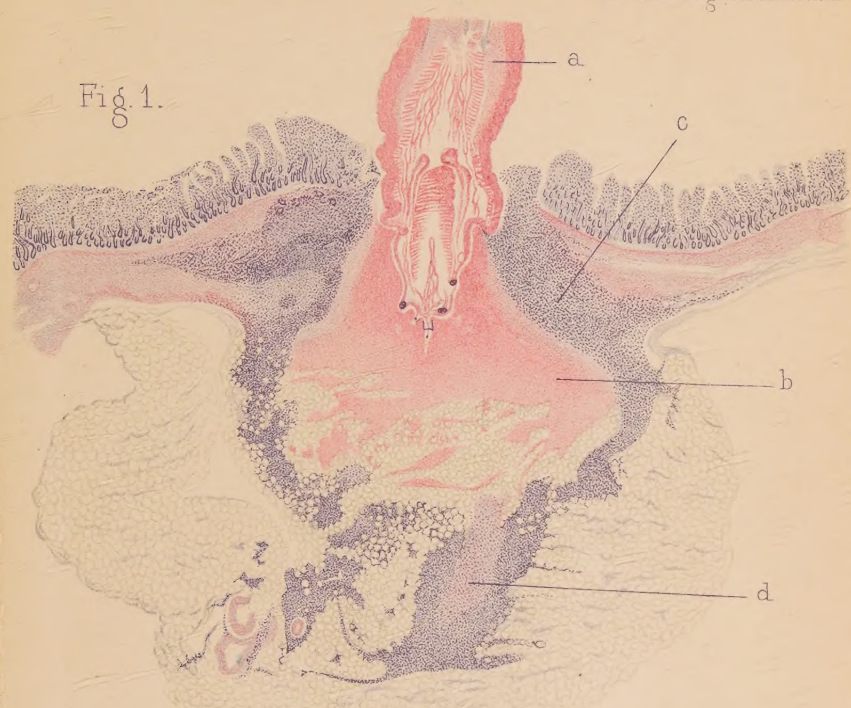
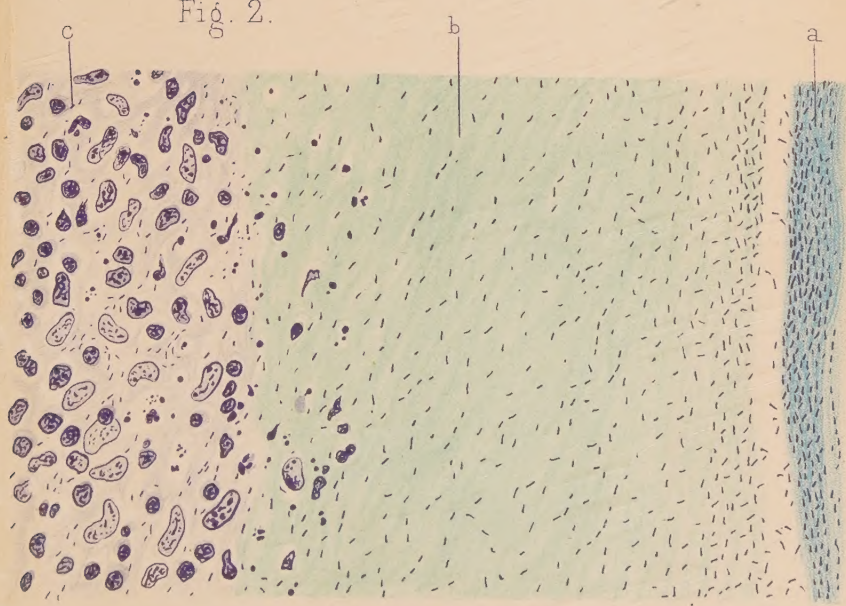


Fig. 2.



Imp. L. Lafontaine, Paris.

Ka. nanski del.

V. Roussel lith.



